ARCHIVES ROUMAINES
DE
PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE
MICROBIOLOGIE

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

Tome II — 1929

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain, PARIS (VIe)

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/romanian-archives-of-microbiology-and-immunology_1929-01_2_1

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME II *N° 1* *JANVIER 1929*

MÉMOIRES ORIGINAUX

RECHERCHES SUR LES CONSTANTES PHYSICO-CHIMIQUES DU PLASMA DES INVERTÉBRÉS A L'ÉTAT NORMAL ET EN COURS D'IMMUNISATION

I. Constantes du plasma de quelques crustacés décapodes à l'état normal.

(Premier Mémoire)

par

A. DAMBOVICEANU

(Travail du Laboratoire de médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest)

L'étude du problème de l'immunité chez les invertébrés est considérée actuellement comme d'un très grand intérêt pour l'explication de certains phénomènes plus complexes manifestés au cours de l'immunisation des organismes supérieurs. Mais, pour entreprendre une analyse méthodique des conditions qui, chez les invertébrés, accompagnent la présence ou l'absence des anticorps, il est indispensable, en premier lieu, de déterminer soigneusement, pour chaque cas particulier, les constantes physico-chimiques normales du milieu intérieur chez l'espèce étudiée.

« Il y a tout un travail préalable », comme s'exprime M. Cantacuzène, « qui n'a été fait jusqu'ici que très incomplètement et faute duquel l'effort expérimental risque de demeurer vain et stérile ».

Pourtant une bibliographie déjà assez riche nous offre des données nombreuses, relativement à la composition du milieu intérieur de certains invertébrés; mais ces données sont éparses et souvent contradictoires, de sorte que tout travail d'ensemble concernant ces questions doit être considéré comme bienvenu.

Dans cette catégorie de publications, il faut faire une place spéciale à celles qui se rapportent à la coagulation du sang chez les crustacés décapodes. Heim, Halliburton et Nolf avaient déjà fait de nombreuses observations sur cette question, mais ce sont surtout les importants travaux de Loeb et de Tait qui lui ont fait faire un progrès considérable.

Les recherches exposées dans le présent mémoire font partie d'une série d'études sur les constituants du sang des invertébrés à l'état normal et en cours d'immunisation, entreprises sous l'inspiration et la direction personnelle du professeur Cantacuzène, dans son Institut de Bucarest et à la station biologique de Roscoff.

Nos premières observations sur les modifications des constituants physico-chimiques du plasma de *Sipunculus nudus,* à l'état normal et en cours d'immunisation, datent de l'été de 1925 à Roscoff ; elles nous ont permis de constater que les protéines coagulables par la chaleur, qui, dans le plasma normal, se trouvent à l'état de traces (0,5 à 0,98 ‰), augmentent considérablement chez les animaux immunisés, dépassant parfois de sept fois (3 gr. 75 ‰) la teneur normale.

Il nous a semblé pourtant, à la suite des publications de Cantacuzène, de Chahowitch et de R. Lévy, qu'à ce point de vue les crustacés offriraient un objet d'étude encore plus favorable. Les auteurs mentionnés avaient montré qu'il existait chez les crustacés décapodes (*Eupagurus prideauxi, Carcinus maenas, Maïa squinado,* etc.), d'une part une immunité naturelle, et que, d'autre part, il était relativement facile de provoquer l'apparition d'anticorps spécifiques chez ces animaux en leur inoculant des antigènes variés. Le plasma de ces crustacés est très riche en substances protéiques, ce qui fait que les modifications humorales imprimées à la composition du milieu intérieur pourraient être plus facilement décelables dans certains états physiologiques, pathologiques, ou à la suite de l'immunisation. Pour entreprendre

cette étude, c'est-à-dire analyser les modifications éventuelles manifestées dans de tels états (mue, hibernation, ponte, etc.), il était indispensable d'établir d'abord les constantes physico-chimiques du plasma normal chez les espèces à étudier.

C'est l'*Astacus fluviatilis* qui nous a permis en premier lieu de faire à ce point de vue les observations les plus complètes, grâce à la facilité de nous le procurer pendant tous les mois de l'année et de le garder assez longtemps en captivité au laboratoire. A la station biologique de Roscoff, nous avons eu l'occasion de compléter ces observations par l'étude d'autres espèces de crustacés sur le plasma desquels nous avons déterminé quelques constantes et surtout le contenu en substances protéiques (*Maïa squinado, Cancer pagurus, Palinurus vulgaris, Homarus vulgaris, Eupagurus prideauxi* et *Carcinus maenas*).

Qu'il nous soit permis d'adresser nos remerciements à M. Pérez, le directeur de cette importante station d'études biologiques, pour son aimable accueil. C'est grâce à sa bienveillance que nous avons eu la possibilité de trouver, d'année en année, de meilleures conditions techniques de travail.

***

Tous les animaux étudiés étaient maintenus pendant la période de nos observations dans des bacs à l'eau courante, aménagés de manière à nous rapprocher le plus possible de leurs conditions normales d'existence. La nourriture la plus favorable pour les crustacés décapodes marins nous a semblé être du poisson de mer et pour les écrevisses d'eau douce la viande de bœuf hachée.

La récolte du sang a toujours été faite à la base d'une des pattes de l'animal, par ponction à l'aide d'une pipette Pasteur légèrement coudée. De cette manière, on obtient du sang en abondance, provenant de la cavité générale, sans que l'état général de l'animal se modifie appréciablement. Quelques jours après une telle ponction, on peut facilement en pratiquer une seconde et même une troisième.

Pour doser les substances protéiques coagulables par la chaleur dans le plasma et dans le sérum, nous avons utilisé la méthode gravimétrique bien connue.

Après addition de chlorure de sodium (lorsque la solution était pauvre en électrolytes), on acidifie avec de l'acide acétique pour réaliser un pH compris entre 4,7 et 5. On chauffe au bain-marie

à 100° pendant une heure, on filtre, on lave le précipité retenu sur le filtre avec de l'eau bidistillée bouillante jusqu'à l'obtention d'une réaction négative avec du nitrate d'argent; on lave le précipité avec de l'alcool et de l'éther pour éliminer les lipoïdes et on sèche le précipité à 105° jusqu'à la réalisation d'un poids constant, contrôlé par plusieurs pesées successives.

Quant à la recherche et au dosage des différentes fractions d'albumines, nous nous sommes servi comparativement de quatre méthodes : 1° celle de Hofmeister (saturation par le sulfate d'ammonium : à 33 % pour les euglobulines, à 50 % pour les pseudo-globulines, et à 100 % pour les albumines vraies); 2° par celle de Hammarsten (saturation à 100 % au chlorure de sodium pour obtenir la précipitation du fibrinogène ; à 100 % par le sulfate de magnésium pour précipiter les globulines ; à 100 % par le sulfate d'ammonium pour les albumines) ; 3° celle de Piettre et Villa (qui consiste dans la précipitation des substances protéiques totales par l'acétone anhydre et l'extraction des albumines vraies par l'eau distillée), et enfin 4° par la méthode réfractométrique de Reiss.

Pour la caractérisation des protéines obtenues par ces différents procédés, nous nous sommes servi de la cataphorèse en utisant le tube en *U* de Michaelis, ou l'appareil de Todd selon les indications techniques de ces auteurs. Nous avons utilisé en plus, dans ce même but, la précipitation par les acides. Les pH désirés étaient obtenus avec les mélanges tampons de Sörensen, de Clarck et Lubs, et de Michaelis. Nous avons choisi dans chacune de ces trois séries les zones dans lesquelles leur pouvoir tampon était le plus constant.

Toutes les déterminations du pH dans le sang total, le plasma ou le sérum ont été faites par la méthode électrométrique quand cela était possible, mais le plus souvent par la méthode colorimétrique d'après les indications de J. Howard-Brown.

Nous donnerons des détails plus complets sur les différentes méthodes employées au fur et à mesure de l'exposition des résultats de nos recherches.

I. — Sang d'*Astacus fluviatilis*.

Par la ponction de la membrane articulaire de la patte d'un astacus de taille moyenne, on obtient habituellement 4 à 5 centimètres cubes de sang. Le sang est en général opalescent, incolore

ou à peine rosé à la sortie du corps. Au bout de quelques secondes, il se trouble et on observe la formation d'un voile qui se contracte peu à peu en prenant l'apparence d'une masse spongieuse surnageant un liquide parfaitement clair (1) et légèrement bleuâtre. C'est une première coagulation ou plutôt une agglutination des éléments figurés contenus dans le sang de cet animal. Le liquide clair constitué par le plasma débarrassé, à la suite de la formation de l'agglutinat cellulaire, de la majorité des éléments figurés, commence à coaguler beaucoup plus tard, c'est-à-dire au bout de vingt à trente minutes, en formant un gel compact qui laisse difficilement diffuser le sérum proprement dit. Il s'en suit que le sang d'astacus présente les deux phases de la coagulation décrites par Loeb chez les crustacés décapodes : une première constituée par l'*altération* et l'*agglutination consécutive des éléments figurés* et une deuxième par la *coagulation proprement dite*, c'est-à-dire la gélification du plasma et la transsudation du sérum. Nous nous permettons d'attirer l'attention sur la rétractilité très peu marquée du caillot.

Pour étudier l'action des différents anticoagulants connus sur le phénomène de la coagulation du sang chez cet animal, nous avons employé l'*oxalate de potassium* en solution à 3/1000, le *citrate de sodium* 3/1000 et le *florure de sodium* 2/1000. Nous avons, en plus, eu recours à l'action de l'*héparine*, de même qu'au *chlorhydrate de cocaïne* en solution à 0.5 % et au *chloroforme*. Les trois anticoagulants salins empêchent très bien la coagulation du plasma sans manifester la moindre influence sur la première phase : destruction et agglutination des éléments figurés.

Il n'en est pas de même quand on emploie le chloroforme ou le chlorhydrate de cocaïne. Le sang d'écrevisses, mélangé en parties égales avec une solution à 1 % de chlorhydrate de cocaïne, ne se trouble plus, et la première phase d'agglutination des éléments n'apparaît pas. Les éléments cellulaires gardent leurs caractères morphologiques, c'est-à-dire qu'ils se maintiennent arrondis, intacts, non agglutinés, en suspension dans le plasma et ne déposant que peu à peu au fond du récipient. Le plasma légèrement opalescent obtenu après décantation reste indéfiniment incoagulable. En centrifugeant du sang rendu incoagulable

(1) Nous avons observé et décrit un phénomène parfaitement analogue chez *l'Anodonta cyaneea*. Il semble d'ailleurs être commun aux éléments figurés du sang de tous les invertébrés.

par l'action de la cocaïne, en lavant, après décantation, le culot d'éléments figurés avec de l'eau physiologique cocaïnisée (0.5 %) jusqu'à élimination totale des albumines du plasma et en réémulsionnant ensuite le même culot dans du sérum physiologique pur, on observe la réapparition rapide de l'agglutination des éléments en suspension qui forment de nouveau l'amas spongieux agglutiné déjà décrit. Les cellules ont repris leur mobilité et la formation de nombreux pseudopodes aciculaires se manifeste immédiatement après l'adjonction de la solution chlorurée.

Pour l'étude de l'action du chloroforme sur la coagulation du sang d'astacus, il faut commencer par maintenir l'animal de trente minutes à une heure dans une atmosphère chargée de vapeurs chloroformiques. La saignée de l'animal ainsi chloroformé nous donne un sang incoagulable dans lequel les éléments figurés restent en suspension pendant un temps assez long. Si l'on centrifuge un pareil sang immédiatement après la saignée et si on lave rapidement le culot avec de l'eau physiologique chloroformée, on obtient les éléments figurés débarrassés des substances protéiques du plasma. Ceux-ci, réémulsionnés dans de l'eau physiologique pure, reproduisent la première phase de la coagulation du sang des crustacés décapodes.

Quant à l'héparine, elle agit de la même façon que les anticoagulants salins, c'est-à-dire qu'elle empêche la gélification du fibrinogène dissous dans le plasma, mais reste absolument sans action sur les éléments figurés, dont elle n'empêche ni l'altération ni l'agglutination consécutive. Pour que l'héparine puisse exercer son action anticoagulante, il faut l'employer de la manière suivante : on commence par préparer une solution d'héparine au 1/10.000 dans du sérum physiologique à 8,5/1000, on la répartit en ampoules de 1 centimètre cube qu'on stérilise à l'autoclave pendant cinq minutes à 120°. Elle se conserve longtemps à la glacière et à l'abri de la lumière. 1 centimètre cube de cette solution est aspiré dans une pipette à boule, effilée et coudée; on introduit la pointe de la pipette ainsi chargée dans la cavité générale de l'écrevisse par ponction à la base d'une des pattes et l'on aspire 5 à 6 centimètres cubes de sang. On mélange, on centrifuge et, après refroidissement dans de la glace, on décante le liquide limpide ou légèrement opalescent qui surnage. Ce liquide représente le plasma héparinisé, incoagulable, contenant approximativement l'héparine à une concentration au 1/50.000.

Il ressort de ces recherches que le sang d'*Astacus fluviatilis* subit après la sortie du corps deux modifications: *une première*

qui a pour résultat l'agglutination des éléments figurés en une petite masse spongieuse surnageant un liquide coloré en bleu, phénomène presque immédiatement consécutif à la saignée de l'animal ; *une deuxième* se produisant beaucoup plus tard, le plus souvent vingt à trente minutes, parfois même douze à vingt-quatre heures après la saignée, et qui a pour résultat visible la formation d'un gel très peu rétractile.

On ne peut empêcher l'apparition de la première modification qu'avec des anesthésiques tels que la cocaïne et le chloroforme, qui, modifiant probablement la surface des cellules, les empêchent d'éclater et de s'agglutiner. En plus, le plasma reste incoagulable par le fait que les éléments figurés ne s'altérant plus, le ferment nécessaire à l'apparition de la deuxième phase (formation du caillot de fibrine) ne manifeste plus son action. Nous avons déjà vu que cette deuxième modification est encore complètement supprimée par les anticoagulants habituels qui agissent exclusivement, semble-t-il, sur les constituants du plasma. Cette deuxième phase de la coagulation du sang chez l'*Astacus* est donc comparable en tout à la coagulation du sang des vertébrés. *Le plasma contient en solution une substance capable d'être précipitée sous l'aspect d'un gel, en présence d'ions calcium, par un ferment résultant de la destruction des cellules du sang ou des tissus*. On peut le prouver par l'expérience suivante :

1° Si on ajoute quelques gouttes d'un extrait de broyage de muscle d'écrevisses dans du sérum physiologique à du plasma rendu incoagulable par l'héparine, *on observe une gélification spontanée.*

2° Si à un second échantillon de plasma héparinisé on ajoute le même extrait, mais chauffé dix minutes à 100°, *il n'y a pas de gélification.*

3° De même, *il n'y a pas de gélification* si à un troisième échantillon de plasma héparinisé on ajoute du sérum frais de cheval.

Il résulte de cette expérience que l'extrait de broyage de muscles d'astacus contient une substance susceptible d'être détruite par un chauffage de dix minutes à 100°, qui *précipite instantanément le fibrinogène, dissous dans le plasma.*

Il en résulte encore que le *fibrine-ferment du sérum frais de vertébré (cheval) est incapable de produire le même effet sur le fibrinogène* d'Astacus fluviatilis.

*
**

Nous allons exposer dans ce paragraphe les résultats de nombreuses déterminations faites à différentes époques de l'année sur les constituants et les propriétés physico-chimiques du sang d'astacus. Au cours de nos recherches sur les animaux normaux nous nous sommes rendu compte qu'il existe une période allant de fin mars à fin juin, et qui correspond à la période de la mue, où la composition du plasma est tout à fait différente de celle qu'il présente pendant le reste de l'année.

Considérons d'abord le plasma d'astacus en dehors de la période de mue, c'est-à-dire à partir de juillet jusqu'à fin mars :

a) dans ses constantes physiques (tableau A) ;

b) dans quelques-unes de ses constantes chimiques (tableau B) ;

c) dans le reste de ses constituants chimiques (substances protéiques et autres).

TABLEAU A

Constantes physiques :	
Index réfractométrique exprimé :	
en divisions de l'échelle réfractométrique....	38,0 — 49,0
pH (méthode électrométrique et colorimétrique)	7,77 — 7,83
Δ (cryoscopique)	0,59
Conductibilité électrique K 18°.....	0,016003
Viscosité (Hess)	1,4 — 1,45

TABLEAU B

Constantes chimiques :	*Grammes pour 100 cc. de plasma*
Résidu sec	4,52 — 4,70
Eau	95,30 - 95,48
Cendres	1,5 — 1,6
Résidu organique	3,52 — 3,10

d) Les substances protéiques coagulables par la chaleur se trouvent en abondance dans le sang d'*Astacus fluviatilis*. Leur taux pour 100 centimètres cubes de sang varie généralement de *3 gr. 84 à 4 gr. 78* pendant la plus grande partie de l'année ; il diminue pendant la période d'hibernation (janvier-février) à *3,20-3,32* lorsque l'index réfractométrique devient égal à 38 divisions de l'échelle réfractométrique et la viscosité à 1,2-1,3 environ.

Les travaux antérieurs concernant le fractionnement des subs-

tances protéiques du plasma d'astacus sont relativement succincts, peu nombreux et souvent contradictoires. Nous avons donc essayé de séparer ces substances et de caractériser leurs différents fragments (euglobuline, pseudo-globuline, etc.) par une série d'opérations dont nous allons indiquer sommairement les résultats.

Du plasma oxalaté est d'abord soumis à des expériences de précipitation par les acides à des pH compris entre 3,0 et 8,10. On constate que ce plasma présente trois zones de précipitation maxima: une première, la plus marquée, aux environs de *pH 3,6;* une seconde, un peu moins prononcée, à un *pH = à 6,92*; et une troisième enfin, à peine marquée, située entre ces deux extrêmes, à un *pH = à 4,30.* Voici un tableau résumant ces résultats :

pH.....	3,10	3,49	3,62	4,10	4,28	4,60	4,83	5,10	5,35	5.55	6,0	6,92
précipité	—	+−	+++	+	++	—	+	+	+	+	+	+++

Dans une autre expérience, nous soumettons du plasma oxalaté à l'action d'un courant électrique de 110 volts pour nous rendre compte du sens de la migration de ces constituants protéiques. L'exposition est réalisée dans un tube en *U* de Michaelis pendant deux heures, le plasma étant maintenu à l'aide d'un mélange tampon à un pH égal à celui du sang dans l'organisme (7,8). Dans ces conditions, on observe un déplacement manifeste, nettement contrôlable macroscopiquement, vers l'anode. Mais, si on recueille le liquide des deux pôles, on constate les réactions suivantes: le liquide recueilli à l'anode est trouble, il s'éclaircit peu à peu s'il est laissé au repos et l'on obtient assez vite un sédiment formé presque exclusivement de fins cristaux d'oxalate de calcium dans un liquide légèrement opalescent ; ce même liquide, acidifié et chauffé à 100°, donne un abondant coagulum. Le liquide recueilli à la cathode est parfaitement limpide, mais acidifié et chauffé à 100°, il devient opalescent et l'on voit apparaître des traces à peine perceptibles d'albumine coagulée.

Il résulte de ces essais que la plus grande partie des protéines contenues dans le plasma d'astacus possède une charge négative à un pH égal à 7,8. Les traces d'albumine que l'on trouve, au même pH, à la cathode, ainsi que l'optimum de précipitation par les acides observé aux environs de *pH 6,92,* nous ont fait supposer qu'un des constituants protéiques d'astacus doit avoir son point iso-électrique assez rapproché de la neutralité.

Pour séparer d'une manière plus évidente encore les différentes fractions des protéines de ce plasma, nous l'avons soumis à des

essais de précipitation en employant une méthode bien connue et indiquée au commencement de ce mémoire. Voici un tableau résumant ces résultats :

Saturation à 50 % par l'acétate de potassium :	apparition au bout de quelques heures d'un fin précipité.
Saturation à 50 % par le chlorure de sodium :	pas de précipité.
Saturation à 100 % par le chlorure de sodium :	précipité légèrement rosé.
Saturation à 28 % par le sulfate d'ammonium :	pas de précipité.
Saturation à 33 % par le sulfate d'ammonium :	précipité légèrement rosé.
Saturation à 100 % par le sulfate de magnésie :	précipité abondant rose bleuâtre.
Saturation à 50 % par le sulfate d'ammonium :	précipité abondant rose bleuâtre.

En séparant par filtration les précipités obtenus à 100 % de saturation par le sulfate de magnésie ou à 50 % de saturation par le sulfate d'ammonium, on obtient un filtrat *nettement coloré en bleu* qui coagule par le chauffage à 100° et qui, saturé à 75 % par le sulfate d'ammonium, donne un précipité bleu. Après une nouvelle filtration, on obtient un liquide incolore qui, cette fois, ne coagule plus par le chauffage à 100° et ne précipite plus par le sulfate d'ammonium.

Si du plasma oxalaté est soumis à la dialyse pendant quarante-huit heures (vingt-quatre heures à l'eau courante et vingt-quatre heures à l'eau distillée), on obtient un précipité incolore, difficilement soluble dans une solution isotonique de chlorure de sodium.

Si, à un volume de sérum ou de plasma on ajoute deux volumes et demi d'acétone, on obtient un abondant précipité coloré en bleu. Après filtration à la trompe, le résidu, lavé à l'acétone et à l'éther, est mis en suspension dans l'eau distillée. On renouvelle plusieurs fois l'eau distillée en répétant la filtration. Par l'extraction à l'eau distillée, on obtient une solution colorée en bleu et un résidu incolore de substances protéiques insolubles dans l'eau physiologique à des pH allant de 3 à 10. Ce résidu, qui représente les globulines du plasma dénaturées par l'acétone, n'est soluble que dans un excès d'acide ou de soude.

Il ressort de toutes les déterminations que nous venons d'exposer que le plasma citraté d'astacus contient des substances protéiques coagulables par la chaleur qui peuvent être séparées en deux ou même en trois fractions :

1° Une première fraction: le *fibrinogène* ou l'*euglobuline*, qui

précipite à 50 % de saturation par l'acétate de potassium, à 100 % de saturation par le chlorure de sodium, ou à 33 % de saturation par le sulfate d'ammonium. Une dialyse de quarante à quarante-huit heures le précipite également en lui faisant perdre en partie sa solubilité dans le sérum physiologique neutre. Il précipite encore lorsque l'on dilue le plasma 1/10 avec de l'eau distillée ou par l'addition d'alcool ou d'acétone à sa solution, mais dans ce dernier cas il est dénaturé en même temps, de sorte qu'il perd complètement sa solubilité dans le sérum physiologique (même après acidification ou alcalinisation à des pH compris entre 8 et 10). On arrive à remettre en solution la fraction ainsi dénaturée (le fibrinogène) en présence d'un excès d'acide ou de base. *Cette fraction, purifiée par plusieurs précipitations, dialysée et finalement soumise à la calcination, donne des cendres qui ne manifestent pas la réaction du cuivre.*

Si on précipite cette même fraction par l'acétate de potassium ou le chlorure de sodium, on entraîne en même temps le lipochrome, de sorte que le précipité obtenu est nettement coloré en rose ou rose orangé. En soumettant ce précipité à l'action des solvants des lipoïdes (acétone ou chloroforme), on sépare le lipochrome et on obtient une substance protéique incolore et insoluble.

2° Une deuxième fraction qui ne précipite totalement de sa solution qu'à 75 % de saturation par le sulfate d'ammonium (un volume de plasma avec trois volumes de solution saturée de sulfate d'ammonium) est constituée par *l'hémocyanine*. La solution de cette substance est incolore à l'abri de l'air, elle se colore nettement en bleu lorsqu'on l'agite en présence de l'air ou lorsqu'on lui ajoute de grandes quantités d'électrolytes (solution saturée à 50 % de sulfate d'ammonium). L'hémocyanine est difficilement précipitable de sa solution ; mais, soumise à une dialyse prolongée (huit à dix jours), elle est totalement précipitée. *Purifiée par plusieurs précipitations, dialysée et ensuite calcinée, elle donne des cendres riches en cuivre.* Sa solution donne la réaction du biuret, sans addition préalable de sulfate de cuivre.

Le pigment du sang d'*Helix pomatia*, que nous avions étudié antérieurement, comparable en tout à l'hémocyanine du sang des crustacés décapodes, diffère par le fait qu'il est totalement précipité de sa solution à 50 % de saturation par le sulfate d'ammonium.

3° Le plasma d'*Astacus fluviatilis* semble contenir parfois, à

l'état de traces, une troisième fraction de substance protéique qui, par le fait qu'elle reste en solution à 33 % de saturation par le sulfate d'ammonium et qu'elle n'est précipitée qu'à 50 % de saturation de sulfate d'ammonium, nous donne le droit de l'identifier aux *pseudo-globulines.*

Pour déterminer le point iso-électrique caractéristique de chacune de ces trois fractions de protéines, nous avons utilisé la méthode suivante: six animaux mâles et femelles bien développés sont saignés par la méthode habituelle. On reçoit leur sang dans une solution saturée de sulfate d'ammonium calculée de telle façon que la saturation finale soit de 50 %. Il se forme immédiatement un abondant précipité jaunâtre qu'on sépare par centrifugation de la solution colorée en bleu dans laquelle il était suspendu. Cette portion liquide est saturée à 100 % par du sulfate d'ammonium ; on obtient un précipité bleu qu'on redissout dans l'eau distillée, qu'on reprécipite; on le dissout à nouveau et enfin on le soumet à une dialyse de quarante-huit heures pour le débarrasser le plus possible de l'excès d'électrolytes. Le liquide bleu limpide ainsi obtenu représente la solution *d'hémocyanine.*

Le précipité jaunâtre est lavé à plusieurs reprises avec une solution saturée à 50 % par le sulfate d'ammonium et finalement repris dans de l'eau distillée. On obtient une solution légèrement jaunâtre qui, soumise à une dialyse de quarante-huit heures, se sépare en deux portions : un précipité incolore partiellement rendu insoluble, le *fibrinogène,* qu'on reprend par une solution isotonique de chlorure de sodium, et une solution assez pauvre en substances protéiques, la fraction des pseudo-globulines. Ces trois fragments : *A)* sol. d'hémocyanine, *B)* sol. de fibrinogène, *C)* sol. de pseudo-globulines, sont soumis à la cataphorèse, de même qu'à l'action précipitante de mélanges tampons formant une échelle qui va de 2,78 à pH 8,10. Voici le tableau résumant ces recherches.

pH.....	(2,78)	(3,06)	(3,22)	(3,58)	(3,84)	(4,10)	(4,38)	(4,68)	(4
Sol. A.....	+−	+−	++	+++	+−	+−	+−	−	
Sol. B.....	−	−	−	−	+−	+−	+−	+−	+
Sol. C.....	−	−	+−	+−	+	+	++	+−	+

Il ressort de ce tableau que la fraction *A* (hémocyanine) a une zone iso-électrique allant de pH *2,78 à pH 4,38,* avec un optimum de précipitation à *pH 3,58.* La fraction *B* (fibrinogène ou euglobuline) a une zone électrique très large allant de *pH 3,84 à pH 7,10*

avec un optimum de précipitation à *pH 5,71*. La fraction *C* (pseudo-globuline) a une zone iso-électrique restreinte allant de *pH 3,22 à pH 4,88*, avec un maximum de précipitation à *pH 4,38*.

Les expériences de cataphorèse nous ont donné des résultats analogues, bien qu'un peu différents ; nous avons trouvé que la fraction hémocyanine avait une zone iso-électrique comprise entre *pH 3,4 et 4,6* et la pseudo-globuline une zone comprise entre *pH 4,6 et 5,8*; pour la fraction euglobuline nous n'avons pas pu préciser, par cette dernière méthode, la zone iso-électrique.

Les caractères des différentes substances protéiques du plasma d'*Astacus fluviatilis* une fois établis, nous avons essayé de déterminer les quantités correspondantes à chacune d'elles chez l'écrevisse à l'état normal.

Voici un tableau résumant les résultats de nombreux dosages faits comparativement sur le plasma citraté ou oxalaté, ainsi que sur le sérum (liquide qui s'échappe du caillot lorsque la coagulation n'a pas été empêchée).

	Plasma citraté	*Sérum*
	(Grammes pour 100 cc. de liquide.)	
Albumines totales	4,31	4,36
Hémocyanine	2,86	3,07
Globulines	1,45	1,28
Pseudo-globulines	0,39	0,92
Euglobulines	1,062	0,36
Viscosité	1,7	1,45
Index réfract.	43,1	43,2

Il ressort de ce tableau que lorsque, par un anticoagulant comme le citrate de soude, on supprime la prise en masse du sang d'astacus, le taux des albumines totales coagulables par la chaleur reste sensiblement le même, mais les rapports entre les différentes fractions varient notablement. *La fraction euglobuline est trois fois plus abondante dans le plasma que dans le sérum ;*

(5,48)	(5,71)	(5,98)	(6,11)	(6,49)	(6,75)	(7,10)	(7,36)	(7,60)	(8,10)
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	++	+−	+−	+−	+−	+−	—	—	—
−	−	—	—	—	—	—	—	—	—

par contre, les fractions pseudo-globuline et hémocyanine se trouvent en quantités plus grandes dans le sérum.

La viscosité, égale à 1,7 dans le plasma, baisse à 1,45 dans le sérum.

Nous avons en plus recherché l'existence des *albumoses,* des *peptones* et de l'*N non protéique* et nous avons constaté qu'après élimination des substances protéiques coagulables par la chaleur, le filtrat du sang d'*Astacus fluviatilis* ne donnait plus la réaction du biuret, de même qu'il ne précipitait plus par le sulfate d'ammonium; il ne contient donc pas d'*albumoses* et pas de *peptones.*

Il contient, par contre, de l'*azote non protéique* dans la proportion de *0 gr. 06 à 0 gr. 07* pour 1000 centimètres cubes de sang (Kjeldal); de l'*acide urique : 0 gr. 022/1000 centimètres cubes* (Grigaut), et de l'*urée* à l'état de traces: *0 gr. 068/1000 centimètres cubes* de sang (Fosse).

Le sang d'Astacus contient des quantités assez importantes de *cholestérine,* comprises entre *0 gr. 41 et 0 gr. 57* pour 1000 centimètres cubes de sang (Grigaut).

Le *glucose* ne peut être mis en évidence que dans le sang frais, il disparaît quelques heures après la saignée. Des dosages faits immédiatement donnent *0 gr. 16 à 0 gr. 20* de glucose pour 1000 centimètres cubes de sang (Fontès-Thivolle).

Le *calcium* varie, dans les cendres de l'astacus à l'état normal, entre *43 et 55 milligrammes* pour 1000 centimètres cubes de sang.

⁂

Nous passons maintenant à l'examen du *plasma d'Astacus fluviatilis au voisinage de la mue.*

Au cours de nos recherches, nous avions observé que c'est vers la fin d'avril et pendant les mois de mai et de juin que les animaux de nos bacs commençaient à muer. Cette mue ne se faisait pas chez tous les animaux en même temps ; elle s'échelonnait sur deux à trois mois. De plus, chez les animaux qui étaient immédiatement avant ou pendant la mue, le sang était *fortement coloré en rose* ou *rose orangé, il coagulait excessivement vite,* de sorte qu'un animal ne pouvait pas donner plus de 0,6 à 1 centimètre cube par saignée. Le pH du sang s'élevait, après la chute de la carapace, de 7,80 à *8,2 et même 8,4,* et l'index réfractométrique, qui se maintenait chez l'écrevisse à l'état normal entre *34 et 47* divisions de l'échelle réfractométrique, montait parfois jusqu'à *68* divisions de la même échelle.

Parmi cinquante astacus que nous nous sommes procurés le 29 mai 1928, nous avons eu la surprise de constater qu'il n'y avait

que cinq mâles, les quarante-cinq restant étant des femelles. En examinant le sang d'un premier lot de cinq mâles et de douze femelles, nous avons trouvé pour l'*index réfractométrique* du sang total, exprimé en divisions de l'échelle réfractométrique, les valeurs suivantes :

5 mâles :	60,2	59,8	66,5	68	64								
12 femelles ;	49,7	50,1	42,3	57,8	*(67,8)*	53,3	58,2	48	41,6	55	49,3	46	44

Toutes les femelles portaient des œufs; une seule, qui s'en était débarrassée, avait le plasma avec un index réfractométrique égal à *67,8*. Les cinq mâles, ainsi que cette femelle, ont été isolés du reste des écrevisses et tenus en observation. Ils ont tous perdu leur carapace dans les vingt-quatre heures qui ont suivi l'examen du sang. Cette observation explique pourquoi le lot d'écrevisses procuré à la fin de mai était composé presque exclusivement de femelles, les mâles en train de muer restaient probablement cachés (pendant la calcification de leur carapace) dans des retraites à l'abri de la voracité de leurs congénères.

En saignant les animaux qui avaient mué au bout de sept jours, lorsque la nouvelle carapace s'était complètement recalcifiée, nous avons constaté que leur sang, redevenu incolore et à peine opalescent à la sortie du corps, avait un index réfractométrique variant de *38 à 50,5* divisions de l'échelle réfractométrique (38,0, 42,0, 43,5, 44,0, 50,5). Il était revenu aux valeurs constatées pour le plasma des animaux en dehors de la mue.

Un mois après ces premières déterminations, la majorité des femelles avaient perdu leurs œufs. En examinant le sang de dix d'entre elles, nous avons trouvé pour l'index réfractométrique de leur sang les valeurs suivantes :

1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°
62,3	53,5	53,2	*59,0*	62,3	56.0	52,6	57,0	*63,3*	*60,0*

Les animaux 9 et 10 faisaient partie du lot dont l'index réfractométrique, un mois antérieurement, avait eu des valeurs comprises entre 40 et 50 divisions de l'échelle réfractométrique.

Les animaux, 1, 5, 9 et 10 ont été séparés et tenus en observation; l'un d'entre eux ayant perdu sa carapace vingt-quatre heures après, les trois autres ont été saignés, et leur sang rendu incoagulable par le citrate de soude ; l'analyse nous a montré que ce plasma avait la composition suivante :

pH	8,0		
Résidu sec	7,28	gr. %	cc. plasma
Cendres	1,02	—	—
Eau	92,8	—	—
Résidu volatil	6,18	—	—
Calcium	55,8	mgr. ‰	cc. plasma
Euglobulines	4,157	gr. %	cc. plasma
Pseudo-globulines	0,570	—	—
Hémocyanine	1,76	—	—
Subst. prot. totales	6,505	—	—

Des examens faits sur des exemplaires isolés immédiatement avant, pendant ou après la mue, montrent que l'index réfractométrique du plasma s'élève, quelques heures avant la chute de la carapace, jusqu'à *68* divisions de l'échelle réfractométrique. A ce moment, le taux des substances protéiques totales est compris entre 7 et 8 grammes pour 100 centimètres cubes de sang, les globulines montent de *1 gr. 29 à 4 gr. 75*; la quantité d'hémocyanine reste constante ou parfois tombe au-dessous du taux normal. La *viscosité s'élève de 1,45 à 1,6-1,7.*

Le calcium variait, aussi bien immédiatement avant qu'après la chute de la carapace, entre *51 et 68* milligrammes pour 100 centimètres cubes de sang. Nous avons vu que, chez l'astacus à l'état normal, il se maintient entre *43 et 55 milligrammes* pour 100 centimètres cubes de sang. Nous avons constaté en plus, en sacrifiant des animaux pris aussi bien à l'état normal qu'en période de mue, que leur réserve de calcium (les gastrolithes, connus populairement sous le nom *d'yeux d'écrevisse* et localisés au-dessus de la cuticule dans le sac cardiaque) commence à se faire vers le mois d'avril. Le calcium se dépose à cette époque sous la forme d'anneaux concentriques sur un support organique ayant l'aspect d'un stroma fibreux. Il grandit progressivement, et c'est lorsqu'il atteint un diamètre de 7 à 8 millimètres que l'animal perd sa carapace. Pendant les vingt-quatre à quarante-huit heures nécessaires pour la calcification de la nouvelle carapace, le dépôt calcaire diminue progressivement (nous en avons trouvé de toutes les dimensions: 5,4 ou 2 millimètres de diamètre) et, lorsque la calcification est achevée, on ne trouve plus, chez les animaux sacrifiés, que le stroma qui avait servi de support à la formation du réservoir de Ca.

Cette observation explique pourquoi les limites entre lesquelles variait le calcium avant et après la chute de la carapace (pendant tout le temps de la calcification) étaient sensiblement les mêmes; le sang n'étant, à notre avis, qu'un vecteur qui transporterait

au fur et à mesure des nécessités le calcium de réserve vers l'enveloppe en train de se consolider.

La solubilisation et la précipitation du calcium pourraient être dues soit à l'apparition d'un ferment soluble dans le plasma, soit à des éléments cellulaires qui, en provoquant des modifications successives du pH sanguin, favoriseraient la précipitation du calcium ; car nous avons observé que le pH qui, à l'état normal, oscillait entre 7,7 et 7,8, s'élevait, au moment de la calcification, à 8,2-8,4 (méthode colorimétrique).

Rapkine et M. Prenant (*C. R. Soc. Biol.* 1925, 181, 1099), en étudiant les variations du pH du liquide blastocœlien de *Paracentrotus lividus* Lamark, au cours du développement des larves, ont constaté que, « dans le blastula et jusqu'à la formation du mésenchyme primaire, le pH restait constant; sa valeur étant de 7 à 7,3. A partir de la formation du mésenchyme primaire (au début de la gastrulation), il s'élevait brusquement (en six heures environ) jusqu'aux environs de 8, puis plus lentement (en une dizaine d'heures) jusqu'à 8,5. C'est au moment où il atteignait 8 qu'apparaissait la première indication des *spicules calcaires*. Une fois monté à 8,5, le pH restait constant pendant cinq heures environ, puis redescendait en vingt-quatre heures à peu près à sa valeur initiale ».

Pour ces auteurs, il est donc clair que la montée et la descente de la courbe du pH sont en rapport avec le dépôt du calcaire. Ils expliquent ce phénomène par l'apparition des cellules du mésenchyme qui, en absorbant le gaz carbonique, provoquent l'élévation du pH, l'équilibre se rétablissant par la précipitation du calcium, qui se trouve en solution dans le liquide blastocœlien.

Dans le cas de notre astacus, l'élévation du pH du plasma de 7,8 à 8,4 pendant la période de calcification de la carapace, ainsi que la précipitation du Ca dans les tissus destinés à former la nouvelle enveloppe pourraient être expliquées par un phénomène analogue.

Nous avons essayé de déterminer, comme le montre l'expérience suivante, quelle était l'action, *in vitro*, des ions H sur le dépôt calcaire enlevé à une écrevisse sacrifiée immédiatement avant la mue; celui-ci, finement pulvérisé, a été réparti en quantités égales dans des tubes à essai contenant des mélanges tampons dont le pH variait de 6 à 8,4.

Après quelque temps de contact, le liquide clair surnageant a été décanté et examiné du point de vue de son contenu en calcium.

Le dépôt calcaire formé en vue de la mue présente un maximum de solubilité à pH *7,7-8,0* (pH du plasma d'astacus à l'état normal); il est, par contre, complètement insoluble à *pH 8,4* (pH du plasma d'astacus au moment de la calcification de la nouvelle carapace).

Le tableau ci-dessous résume les résultats de cette expérience:

pH :	(6,0)	(6,2)	(6,5)	(6,7)	(7.0)	(7,2)	(7,4)	(7,6)	(7,8)	(8,0)	(8,2)	(8,4)	Mélanges tampons.
Calcium :	—	—	—	—	—	—	—	—+	+++	++	+—	—	

L'élévation du pH expliquerait donc la précipitation du Ca dissous dans le plasma. Il serait intéressant, par des études cytologiques faites au niveau des endroits où se dépose le calcium, de voir si les changements du pH qui provoquent la solubilisation du dépôt calcaire et l'alcalinisation du sang d'*Astacus fluviatilis* favorable à la reprécipitation du calcium dissous, sont en relation avec des modifications morphologiques éventuelles.

A la suite *des saignées ou des hémorragies* de l'astacus, nous nous sommes aperçu que son plasma subissait de ce fait des modifications importantes.

En général, deux à quatre heures après la chute de la carapace, l'index réfractométrique, ainsi que le taux des substances protéiques, reviennent à des valeurs normales :

Index réfract	38 à 48 divisions de l'échelle réfractométrique.
Alb. totales	4 à 5 grammes pour 100 cc. de sang.

On trouve pourtant fréquemment, à la suite de la mue, des animaux chez lesquels le plasma est pauvre en substances protéiques (1,5 à 3 grammes pour 100 centimètres cubes de sang), l'index ayant baissé à 28-30 divisions de l'échelle réfractométrique. Il est intéressant de noter que, malgré la pauvreté en substances protéiques totales, le sang de ces animaux coagule encore très fortement.

Au cours de nos recherches, nous avons observé en plus que des animaux abondamment saignés se comportaient d'une manière analogue. Voici une expérience montrant ce fait: deux astacus de taille moyenne sont saignés par le procédé habituel; on enlève à chacun d'eux 3 centimètres cubes de sang. L'un des animaux [**1**] est gardé dans un bassin vide, légèrement humide. L'autre [**2**] est conservé dans un bac rempli d'eau. On examine leur sang une demi-heure et vingt-quatre heures après la saignée. *On constate que la saignée provoque une disparition partielle des substances protéiques du plasma, qui se manifeste à peine, ou pas*

du tout, au bout d'une demi-heure, mais devient très nette au bout de vingt-quatre heures, comme l'indique le tableau suivant :

	Avant la saignée		*Une demi-heure et 24 heures après la saignée*		
Astacus	Index réfract.	Subst. prot. tot.	Index réfract.	Index réfract.	Subst. prot.
[1]	43,1 divisions	4.60 gr. % cc.	43,0 divis.	35,0 divis.	2,84 gr. % cc
[2]	37,0 —	3,28 —	36,0 —	34,0 —	1,76 —

Un phénomène analogue à celui relaté dans cette expérience se produit probablement chez les écrevisses qui, au moment du changement de la carapace, subissent à la suite d'une lésion quelconque des pertes de sang importantes.

Les maladies spontanées, les asphyxies ou l'injection des animaux avec des corps étrangers peuvent aussi amener des modifications considérables du sang de l'astacus.

Le sang des écrevisses spontanément malades ou ayant séjourné dans un réservoir dont l'eau n'a pas été suffisamment aérée change complètement d'aspect et présente des propriétés très modifiées. Il devient incoagulable, ne bleuit plus lorsqu'il est agité en présence de l'air; le taux des substances protéiques baisse jusqu'à *0 gr. 5* pour 100 centimètres cubes de sang, et par suite l'index réfractométrique baisse aussi à 25-28 divisions de l'échelle réfractométrique.

Avant de finir cette étude du sang d'*Astacus fluviatilis,* nous désirons exposer brièvement une observation qui nous semble intéressante. Nous la présenterons avec plus de détails dans un deuxième mémoire, qui contiendra également les résultats de nos recherches sur les constantes du plasma des crustacés décapodes pendant l'immunisation. Il s'agit des modifications observées dans le sang d'astacus à la suite de l'inoculation de globules rouges étrangers.

Trois astacus [**1**] [**2**] [**3**], de grande taille, dont le plasma avait un index compris entre *34,2* et *35,6* divisions de l'échelle réfractométrique, reçoivent dans la cavité générale par ponction de la base d'une des pattes, *1 centimètre cube* de suspension au 1/20 de globules rouges de mouton dans du sérum physiologique. L'astacus [**1**] est saigné cinq minutes, le [**2**] une demi-heure et le [**3**] vingt-quatre heures après ces inoculations.

On examine en goutte pendante le sang de ces animaux.

On détermine en plus l'*index réfractométrique,* les *substances protéiques totales,* l'*hémocyanine* et les *globulines.*

L'examen microscopique du sang montre que, cinq minutes après l'inoculation de globules rouges de mouton, les éléments

figurés propres au sang de l'animal ont presque complètement disparu de la cavité générale, tandis que l'on y trouve encore une quantité assez grande de globules rouges injectés. Après une demi-heure, les éléments propres du sang d'astacus n'ont pas encore reparu. On observe encore quelques hématies de mouton. Vingt-quatre heures après, on constate l'apparition en grand nombre des éléments figurés du sang d'astacus, tandis que les globules de mouton ont presque complètement disparu.

L'aspect macroscopique du sang de ces animaux est le suivant : incolore ou à peine rosé, il bleuit difficilement au contact de l'air. La coagulation, même après trois jours de séjour à la glacière, ne se fait pas. Si on le centrifuge et si on le remet pendant vingt-quatre heures à la glacière, il se gélifie légèrement : mais il suffit d'agiter le tube, puis de centrifuger, pour obtenir cette fois un liquide limpide et une très petite masse de fibrine.

Le taux de la totalité des substances protéiques du plasma, ainsi que de leurs différentes fractions, est consigné dans le tableau qui suit :

Astacus	Index réfract.	Substances prot. tot.	Hémocyanine	Globulines	Cendres
[1]..	29,4 divis.	1.60 gr. % cc.	0,25 gr. % cc.	1,35 gr. % cc.	1,55 gr. % cc. plasma
[2]..	31,0 —	1,96 —	0,40 —	1,56 —	1,30 — —
[3]..	33,4 —	2,48 —	1,00 —	1,48 —	1,55 — —
Normal	43.1 —	4.31 —	2,86 —	1,45 —	1,55 — —

Il ressort de ces expériences qu'à la suite de l'inoculation de doses massives de globules rouges de mouton, entre cinq minutes et une demi-heure après l'injection, le sang de l'astacus devient *incoagulable et son contenu en substances protéiques s'appauvrit considérablement; les éléments figurés propres au sang de l'animal disparaissent presque totalement de la cavité générale.*

Au bout de vingt-quatre heures, l'équilibre se rétablit en partie et, les jours suivants, on voit reparaître un très grand nombre d'éléments figurés, tandis que le taux des albumines, de bas qu'il était, tend à redevenir normal.

*
**

Nos observations sur les constantes physico-chimiques du sang d'*Astacus fluviatilis* à l'état normal nous amènent à formuler les faits suivants :

1° La composition du sang de cet animal varie avec les différents états physiologiques dans lesquels il se trouve au moment de l'examen ;

2° Des accidents, comme la perte de sang à la suite d'une blessure quelconque, une maladie spontanée ou le séjour dans une eau mal aérée, peuvent complètement changer l'aspect et les propriétés du sang d'*Astacus fluviatilis*.

Par conséquent, il est nécessaire, avant toute expérience d'immunisation des astacus, de contrôler la composition de leur sang : la détermination de l'*index réfractométrique, l'examen entre lame et lamelle* et *l'épreuve de la coagulabilité* (le tout pouvant être fait sur cinq à six gouttes de sang) nous semblent pouvoir donner des indications suffisantes sur les rapports des constituants protéiques du plasma de ces animaux.

TABLEAU

RÉSUMANT LA COMPOSITION DU PLASMA D'ASTACUS FLUVIATILIS PENDANT DIFFÉRENTS ÉTATS PHYSIOLOGIQUES

	Astacus en hibernation (janvier, février, mars)	*Astacus à l'état normal* (juin-janvier)	*Astacus à la mue* (avril-juin)
pH	7,77 - 7,83	7,77 - 7,83	7,8 - 8,4
Delta	0,57	0,59	0,60
Viscosité	1,20	1,45	1,70
Résidu sec	4,50 gr % cc	5,40 - 7,10 gr % cc	7,50 - 11,0 gr % cc
Résidu volatil	3,0 —	3,90 - 5,40 —	6,0 - 9,4 —
Cendres	1,5 - 1,6 —	1,5 - 1,6 —	1,5 - 1,6 —
Eau	96,0 —	94,6 - 92,9 —	94,5 - 89,0 —
Substances prot. totales	3,20 - 3,32 —	3,80 - 4,70 —	6,5 - 8,0 —
Hémocyanine	2,60 —	2,86 —	1,76 —
Globulines	0,70 —	1,45 —	4,745 —
Index réfract. expr. en divisions de l'échelle réfract.	36 —	38 - 49	59 - 68
Urée	0,060 gr °/₀₀ cc	0,068 gr °/₀₀ cc	0,068 gr °/₀₀ cc
Acide urique	0,020 —	0,022 —	0,022 —
Cholestérine	0,40 —	0,41 —	0,57 —
Glucose	0,16 —	0,16 - 0,20 —	0,16 - 0,20 —
Calcium (mgr.)	43 mgr °/₀₀	43 - 55 mgr °/₀₀ cc	54 - 68 mgr °/₀₀ cc

II. — *Sang de quelques crustacés décapodes marins.*

Cette deuxième série de recherches contient les résultats de nos observations faites à Roscoff pendant les mois d'été (juillet, août, septembre), en 1925, 1927 et 1928.

Les espèces étudiées ont été les suivantes : *Palinurus vulgaris*,

Homarus vulgaris, Eupagurus prideauxi, Portunus depurator, Cancer pagurus, Carcinus maenas et *Maïa squinado.*

Palinurus vulgaris (langouste)

Nous commençons par exposer les résultats de nos déterminations sur le plasma de la langouste, parce que la quantité importante de sang qu'elle donne en une seule saignée (120 à 150 centimètres cubes pour un poids de 1 k. 1/2 à 2 kilogr.) la rend particulièrement favorable à la poursuite d'un travail plus complet.

L'aspect du sang de langouste est assez caractéristique : nettement coloré en rose, trouble à la sortie du corps, il devient très vite bleu violacé s'il est agité en présence de l'air; deux à trois minutes après la saignée, on voit apparaître de gros flocons qui fusionnent en formant une masse compacte surnageant un liquide parfaitement limpide et coloré en bleu violacé. C'est la première phase de la coagulation, semblable en tout à celle que nous avons déjà constatée chez l'écrevisse. Quinze à vingt minutes plus tard, toute la masse sanguine forme un seul bloc gélifié, très compact, sans la moindre trace de rétractibilité. Pour obtenir le sérum, il faut broyer le caillot, mettre le tout sur un entonnoir et le laisser s'égoutter pendant un certain temps.

Nous avons étudié comparativement les substances protéiques du plasma citraté et du sérum recueilli d'après la méthode indiquée ci-dessus ou par défibrination du sang avec des perles de verre. Voici les résultats obtenus :

	Plasma citraté	*Sérum*
Saturation à 50 % par l'acétate de potassium	*flocons jaunâtres*	*pas de précipité.*
Saturation à 100 % par le sulfate de magnésie	précipité abondant	précipité abondant.
Saturation à 28 % par le sulfate d'ammonium	pas de précipité	pas de précipité.
Saturation à 33 % par le sulfate d'ammonium	*précip. jaune rosâtre*	pas de précipité.
Saturation à 50 % par le sulfate d'ammonium	précipité jaune rose	précip. jaune rose.
Saturation à 75 % par le sulfate d'ammonium	précip. abondant bleu	précip. abond. bleu.

1° Il existe donc dans le plasma citraté de langouste une substance protéique qu'on ne retrouve pas dans le sérum, qui précipite à 50 % de saturation par l'acétate de potassium et à 33 % de

saturation par le sulfate d'ammonium. Cette même substance précipite encore à 100 % de saturation par le chlorure de sodium et, après une dialyse de quarante heures, *c'est le fibrinogène*. Si on sépare par filtration le précipité obtenu en saturant le plasma de langouste à 33 % par le sulfate d'ammonium, et si l'on ajoute au filtrat limpide du sulfate d'ammonium jusqu'à saturation à 50 %, on voit que le liquide devient à peine opalescent; on n'observe aucune précipitation. Par contre, si le sérum de langouste est saturé à 33 % par le sulfate d'ammonium, il devient à peine opalescent et on n'observe l'apparition d'un précipité que si l'on pousse cette saturation jusqu'à 50 %.

2° Il existe donc une deuxième fraction protéique qui a les caractères des *pseudo-globulines*; on ne la trouve qu'à l'état de traces dans le plasma, tandis qu'elle représente environ 10 % des substances protéiques du sérum.

3° Le plasma, ainsi que le sérum de langouste, contient une troisième fraction protéique, l'*hémocyanine*, qui précipite à 75 % de saturation par le sulfate d'ammonium, dont la solution bleuit si elle est agitée en présence de l'air, et qui est riche en cuivre.

En soumettant le plasma citraté de langouste à l'action précipitante des acides, nous avons constaté qu'il présentait trois zones de précipitation optima: une comprise entre *pH 3,4 et 3,8*, une deuxième comprise entre *pH 4,2 et 4,6* et enfin une troisième aux environs de la neutralité.

Pour déterminer le point iso-électrique caractéristique des trois fractions protéiques sus-citées, nous avons soumis le plasma de langouste à une technique analogue à celle déjà indiquée pour les protéines du plasma d'*Astacus fluviatilis*.

Nous avons trouvé que la fraction pseudo-globuline présentait une zone iso-électrique allant de *pH 3,8 à 5,2* et un minimum de charge à *pH 4,5*. L'hémocyanine est caractérisée par une zone électrique qui va de *pH 3,4 à pH 4,2*, son minimum de charge électrique étant à pH *3,9*. Le point iso-électrique du fibrinogène semble être compris entre pH 6 et 7; il est plus difficile à déterminer à cause de la vitesse avec laquelle cette substance est rendue insoluble par la dialyse, par les solvants des lipoïdes et quelquefois même par une précipitation spontanée. Il nous est arrivé de constater, en saignant une langouste mourante, que de son plasma fluoré précipitait spontanément, au bout de douze heures, une substance protéique qui ne pouvait plus être remise en solution qu'en présence d'un excès d'acide ou de base.

Les chiffres entre lesquels varie le taux de la totalité des subs-

tances protéiques, ainsi que celui de leurs différentes fractions dans le plasma et le sérum de langouste, sont exposés dans le tableau suivant :

	Sérum (gr. °/₀ cc. de liquide)	*Plasma citraté* (gr. °/₀ cc. de liquide
Substances protéiques totales	5,93 - 8,165	6,68 - 8,70
Hémocyanine	5,55 - 7,045	5,55 - 7,89
Fibrinogène	absent	0,72 - 0,78
Pseudo-globulines	0,38 - 1,12	indosable - 0,34

L'hémocyanine représente la majeure partie des substances protéiques du plasma et du sérum de langouste, car si l'on se rapporte à 100 la répartition des différentes fractions est la suivante :

	Sérum	*Plasma*
Hémocyanine	92 à 86 °/₀	84 à 90 °/₀
Fibrinogène	absent	16 à 9 °/₀
Pseudo-globulines	8 à 14 °/₀	0 à 1 °/₀

Nous avons constaté pour la langouste, comme pour l'*Astacus fluviatilis,* qu'une forte saignée modifiait le taux des substances protéiques du sérum en l'abaissant, comme le prouve l'expérience suivante :

Une langouste de 2900 grammes a été saignée suivant la technique indiquée; elle fournit 120 centimètres cubes de sang total; si on la remet dans un bac à eau de mer et la nourrit de poisson frais, son état général reste très bon. Deux jours après, le même animal donne facilement 100 autres centimètres cubes de sang qui ont un aspect analogue et forment un caillot aussi compact que le sang de la première saignée. Pourtant le taux des substances protéiques totales, ainsi que celui de leurs différentes fractions, a diminué, comme on peut le voir dans le tableau suivant :

	1re saignée (gr. % cc. de *sérum*)	*2e saignée* (gr. % cc. de *sérum*)	*Différence*
Substances protéiques totales	8,165	6,850	1,315
Hémocyanine	7,045	5,895	1,150
Globulines	1,120	0,955	0,165
Pseudo-globulines	1,120	0,955	0,165
Fibrinogène	absent	absent	—
Rapport Hémocyanine-globulines	6,3	6,1	—
pH (rouge de phénol)	7,4	7,4	—

Nous avons essayé de voir si on obtient les mêmes valeurs pour l'hémocyanine lorsqu'on la dosait comparativement dans le

plasma saturé à 100 % par le sulfate de magnésie et à 50 % par le sulfate d'ammonium. Nous en avons trouvé dans le premier cas *5 gr. 885*, et dans le deuxième *5 gr. 900* pour 100 centimètres cubes de plasma. Les dosages d'hémocyanine, faits d'après la méthode de Piettre et Villa, donnent des chiffres un peu plus bas : *5 gr. 40* pour 100 centimètres cubes de sang.

Homarus vulgaris (homard)

Le sang de homard a le même aspect que celui de langouste et se comporte d'une manière tout à fait analogue. Nous avons trouvé que le taux des protéines totales coagulables par la chaleur était compris entre 3 gr. 4 et 5 gr. 86 pour 100 centimètres cubes de plasma. Il était donc moins élevé que chez la langouste.

Eupagurus prideauxi

Le sang d'eupagure est incolore ou rosé et légèrement opalescent à la sortie du corps. Il bleuit fortement s'il est agité en présence de l'air. Il présente, comme le sang de langouste, les deux phases de la coagulation du sang de crustacés :

1° L'altération et l'agglutination des éléments figurés ;

2° La gélification du plasma sanguin avec la formation d'un caillot très peu contractile.

Le premier phénomène ne peut être supprimé que par l'action des anesthésiques, tandis que le deuxième est supprimé par tous les anticoagulants habituels.

Le plasma d'eupagure contient les trois fractions de substances protéiques décrites chez l'astacus et la langouste; nous les avons caractérisées en plus par leur point de coagulation.

Le fibrinogène coagule à 56°, la pseudo-globuline à 75-69°, et l'hémocyanine à 64-65°.

Les substances protéiques totales du plasma d'eupagure coagulables par la chaleur varient entre 6 et 8 grammes pour 100 centimètres cubes de sang.

Nous avons déterminé en plus, par la méthode de Laudat, la totalité des lipoïdes et de leurs différentes fractions dans le sang d'eupagure.

Voici un tableau qui résume les résultats de nos recherches :

LIPOIDES (Méthode de Laudat)

La totalité des lipoïdes	5,21	gr. pour 1000 cc. de sang
Cholestérine libre	0,182	gr. —
Lipoïdes phosphorés	0,543	gr. —
Cholestérine étherifiée	0,0377	gr. —
Acides gras	0,4953	gr. —

MAÏA SQUINADO (araignée de mer)

Le sang de maïa est souvent incolore, parfois coloré en rose ou rose orangé, quelquefois opalescent, d'autres fois trouble à la sortie du corps de l'animal. Il présente, comme le sang de langouste, d'astacus, de homard et d'eupagure, la première phase de la coagulation, c'est-à-dire l'altération et l'agglutination des éléments figurés.

Par contre, le liquide limpide, que surnage le caillot spongieux déjà décrit, ne présente plus la deuxième phase de la coagulation du sang des crustacés décapodes, c'est-à-dire la gélification de toute la masse sanguine. On trouve parfois des animaux dont le sang forme un gel presque fluide duquel on sépare le sérum par simple agitation et centrifugation. Le sang de maïa est relativement pauvre en substances protéiques, *il ne contient de l'hémocyanine qu'à l'état de traces.* Voici un tableau où nous exposons le résultat des dosages des substances protéiques totales, ainsi que de leurs différentes fractions.

	Maïas à l'état normal (grammes %)	*Maïas ayant mué* (carapace incomplètement calcifiée) cc. de sang)
Substances protéiques totales	1,52 - 3,55	0,30 - 1,10
Globulines	1,18 - 3,46	0,30 - 0,92
Pseudo-globulines	1,16 - 3,02	—
Euglobulines	0,02 - 0,44	—
Hémocyanine	0,10 - 0,40	traces - 0,18

Comme on peut le voir dans ce tableau, la chute de la carapace peut provoquer aussi chez la maïa des pertes de sang qui réduisent le taux du sang protéique total à *0 gr. 30 % centimètres cubes* de sang. L'hémocyanine, déjà en très petite quantité chez l'animal normal, n'existe plus qu'à l'état de trace chez celui qui a changé de carapace.

Le sang de maïa, ainsi que celui des crustacés étudiés jusqu'ici, ne contient ni albumoses ni peptones. Il contient des traces d'urée : 0 gr. 0365 pour 1000 centimètres cubes de sang.

Les lipoïdes, dosés par la méthode de Laudat, nous ont donné les chiffres suivants :

Cholestérine	0,121 gr./1000 cc.	de sang
Lipoïdes phosphorés	0,35 gr./1000	—
Acides gras	0,60 gr./1000	—

Le plasma de maïa, débarrassé par centrifugation des éléments figurés, est dépourvu *d'oxydases* et de *peroxydases*; il contient des traces de *catalase*; il ne contient pas de ferments *protéolytiques.*

Nous avons déterminé en plus quelques-unes des constantes physiques du sang de maïa, que nous exposons dans ce tableau.

pH (colorimétrique)	7,8 - 7,9.
Δ *cryoscopique*	-2,025, celui de l'eau de mer à Roscoff étant égal à -2,01.
Densité	1,037.
Tension superficielle	70,8 dynes (22°).
Viscosité	1,2 - 1,3.

Portunus depurator (crabe nageur)

Le sang des crabes nageurs est incolore chez les uns, coloré en jaune orangé chez les autres, parfois opalescent, d'autres fois trouble à la sortie du corps. Il bleuit s'il est agité en présence de l'air. Il présente la première phase de la coagulation du sang des crustacés décapodes; quant à la deuxième, elle est extrêmement réduite : on ne voit apparaître que de petites masses gélifiées qui adhèrent à la paroi du vase; au bout de vingt heures, on constate que tout le liquide forme une gelée demi-fluide qui laisse diffuser le sérum après une simple agitation et centrifugation. Le dosage de la totalité des substances protéiques coagulables par la chaleur, ainsi que leurs différentes fractions, nous a donné les résultats suivants :

Albumines totales	3,64 - 4 gr. pour 1000 cc.	de sang.
Hémocyanine	0,96 - 1 gr.	—
Globulines	2,68 - 2,9 gr.	—

Cancer pagurus (tourteau)

Le sang des tourteaux est en général légèrement coloré en rose ou incolore, parfois opalescent, d'autres fois un peu trouble à la sortie du corps.

Il présente, comme le sang des invertébrés en général, le premier phénomène de la coagulation, c'est-à-dire la destruction et l'agglutination des éléments figurés.

Il contient de 3 à 4 grammes de substances protéiques coagulables par la chaleur pour 100 centimètres cubes.

Il nous est arrivé de trouver chez un énorme tourteau (diam. 23 cm. × 15), dont le sang était intensément coloré en rose et bleuissait fortement au contact de l'air, 8 grammes de substances protéiques pour 100 centimètres cubes de plasma.

Une femelle qui était aussi de grande taille (diam. 15 cm. × 10), saignée le même jour, avait par contre un sang qui ne contenait que *0 gr. 34* de substances protéiques pour 100 centimètres cubes.

Comme la période de la mue n'avait pas encore passé, il se pourrait que le mâle se trouvât avant et la femelle après la chute de la carapace, étant donné les constatations que nous avons faites pour l'*Astacus fluviatilis*.

Nous avons réussi à séparer du plasma de *Cancer pagurus* des fractions de substances protéiques qui se comportaient d'une manière analogue à celle des fragments isolés du plasma d'*Astacus fluviatilis*, du point de vue précipitation par les sels neutres: dialyse, action du pH, etc.

Carcinus maenas (crabe)

Le sang de crabe est incolore ou rose et légèrement opalescent à la sortie du corps ; il bleuit faiblement au contact de l'air.

Il présente la première phase de la coagulation du sang des crustacés décapodes, c'est-à-dire l'agglutination des éléments figurés; quant à la deuxième, elle est réduite à une gélification partielle du liquide qui se traduit parfois par l'apparition de petits îlots gélifiés adhérant aux parois du verre.

Chez certains animaux qui approchent de la mue, le sang est coloré en rose ou en rose orangé; il présente la deuxième phase de la coagulation beaucoup plus accentuée que chez les normaux; on observe même une gélification de la masse sanguine avec la formation d'un caillot demi-fluide.

A cette même époque, les animaux ont un plasma beaucoup plus riche en substances protéiques que celui de ceux éloignés de la mue.

Voici un tableau qui résume comparativement les chiffres repré-

sentant le taux des substances protéiques chez le crabe normal et chez celui qui est au voisinage de la mue :

	CRABES ÉLOIGNÉS DE LA MUE	CRABES AU VOISINAGE DE LA MUE
	(chiffres moyens pour 100 cc. de sang)	
Alb. tot. coag. à 100°	2,20	5,3 gr.
Hémocyanine	0,72	2,17 gr.
Globulines	0,67	2,83 gr.
Pseudo-globulines .	0,31	2,13 gr.
Fibrinogène	0,50	0,70 gr.
Viscosité	1,35	1,55 gr.

Le plasma de *Carcinus maenas* ne contient *ni albumoses ni peptones*, car après l'élimination des substances protéiques coagulables par la chaleur, il ne donne plus la réaction du biuret.

Le Δ du plasma de carcinus est égal à — 2,08-2,1, celui de l'eau de mer à Roscoff étant égal à — 2,01.

Le pH du sang de carcinus est égal à 7,6-7,7. Il a été déterminé par la méthode colorimétrique (rouge de phénol).

Nous exposerons enfin, avant de passer aux conclusions de cette étude, les résultats de nos recherches comparatives sur le plasma des crabes normaux, sacculinés et ayant perdu leur sacculine.

Voici un tableau qui résume nos résultats :

	CRABES NORMAUX		CRABES SACCULINÉS		CRABES AYANT PERDU LEUR SACCULINE EXTERNE	
	éloignés de la mue	*voisinage immédiat de la mue*	*éloignés de la mue*	*voisinage immédiat de la mue*	*éloignés de la mue*	*voisinage immédiat de la mue*
Albumines tot.coag.à100°	2,20	5,30	2,75	7,75	3,30	7,95
Hémocyanine	0,72	2,17	1,0	3,30	0,38	3,0
Globulines	0,67	2,80	1,49	4,27	2,92	4,62
Pseudo-globulines	0,31	2,13	0,95	3,31	2,32	3,90
Fibrinogène	0,50	0,70	0,54	0,96	0,60	0,72
Viscosité	1,35	1,55	1,45	1,75	1,60	1,70

Il résulte de l'examen de ce tableau que la totalité des substances protéiques coagulables par la chaleur augmente dans le plasma du crabe sacculiné. Cette augmentation est encore plus évidente chez les animaux ayant perdu leur sacculine externe.

Il est fort probable que l'intoxication produite par la sacculine interne provoque de la part de l'hôte des réactions de défense qui sont plus marquées après la chute de la sacculine externe, lorsque les racines internes finissent par être résorbées. Cette défense se traduit par l'augmentation des substances protéiques et surtout.

de la fraction pseudo-globulines, dont le taux, comme on peut le voir, s'élève de *0 gr. 31 à 2 gr. 32* chez les crabes éloignés de la mue et de *2,13 à 3,90* chez ceux qui sont au voisinage immédiat de la mue.

La viscosité augmente proportionnellement aux albumines, c'est-à-dire de 1,35-1,55 à 1,60-1,75.

CONCLUSIONS

Résumant les données obtenues dans cette étude, nous constatons les faits suivants :

Le sang des crustacés décapodes est relativement pauvre en éléments figurés; ceux-ci, excessivement fragiles chez toutes les espèces étudiées, s'altèrent très vite après la sortie du corps ; ils s'agglutinent et forment une masse spongieuse qui surnage le liquide parfaitement limpide représentant le plasma. Cette altération, de même que l'agglutination qui s'en suit, ne peut être supprimée que par des anesthésiques, tels que le chlorhydrate de cocaïne ou le chloroforme. Les anticoagulants sont absolument sans aucune action sur ce phénomène, considéré par certains auteurs comme représentant la première phase de la coagulation du sang chez les invertébrés. La substance qui détermine l'accolement des amibocytes et leur groupement en amas agglutinés semble ne pas être d'origine plasmatique, mais issue des éléments figurés eux-mêmes.

Le plasma limpide qu'on obtient après la séparation spontanée des éléments figurés est intensément coloré en *bleu violacé* chez la *langouste,* le *homard,* l'*Eupagurus prideauxi* et l'*Astacus fluviatilis* (chez ce dernier surtout dans la période de la mue); il est par contre rose bleuâtre chez le *crabe,* le *tourteau,* le *crabe nageur* et l'*araignée de mer.* Cette coloration est due en partie à un *chromogène* soluble dans le plasma, qui colore le sang en rose ou rose orangé; il n'apparaît en abondance que dans la période de la mue et n'existe qu'à l'état de traces pendant le reste de l'année. La coloration bleue, qui ne se manifeste qu'à la suite de l'agitation en présence de l'air, est due à la présence du pigment respiratoire, l'*hémocyanine.* Cette pigmentation du plasma après son agitation en présence de l'air, ainsi que les différents dosages que nous avons faits, nous ont montré que le sang de la *langouste,* du *homard,* de l'*eupagure* et de l'*astacus* est beaucoup plus riche

en hémocyanine que celui *des crabes, du tourteau et de la maïa.* En effet, tandis que ce pigment représente environ 90 % de la totalité des substances protéiques du plasma de la langouste, il n'existe qu'en très petite quantité dans le plasma de maïa.

Le plasma de *langouste, de homard, d'eupagure et d'astacus* présente nettement la deuxième phase de la coagulation du sang des crustacés décapodes, c'est-à-dire la gélification du plasma avec la formation d'un caillot *compact,* et *si peu rétractile* qu'il faut le broyer pour permettre au sérum de diffuser.

Le plasma de *Carcinus maenas,* de *Portunus depurator,* de *Cancer pagurus et de Maïa squinado* reste le plus souvent liquide; on observe parfois l'apparition de petites masses gélifiées qui adhèrent au fond et aux parois du vase ; ce n'est qu'exceptionnellement que le liquide forme dans sa totalité un gel demi-fluide qu'il suffit d'agiter et de centrifuger pour séparer le sérum. La gélification du plasma des crustacés décapodes peut être supprimée par tous les anticoagulants habituels. Elle semble être due, de même que chez les vertébrés, à la précipitation sous forme de gel du fibrinogène dissous dans le plasma. Cette précipitation du fibrinogène en présence des sels de calcium s'accomplit sous l'influence d'*un ferment qui résulte de la destruction des éléments figurés,* comme nous l'avons démontré par l'action de l'héparine comparativement à l'action des anesthésiques. Le fibrine-ferment est donc d'origine nettement cellulaire (amibocyte, muscle, etc.) chez les crustacés décapodes.

Le plasma de toutes les espèces étudiées contient en solution des substances protéiques coagulables par la chaleur que nous avons réussi à séparer en trois fractions :

1° Une première qui présente les caractères des *euglobulines*: le *fibrinogène.* C'est une substance très labile. Une dialyse de quarante-huit heures suffit pour la dénaturer en la rendant insoluble. Son point iso-électrique semble être compris entre pH *5,70 et 6,92.* Elle coagule à 56° ;

2° Une deuxième, qui présente les caractères des *pseudo-globulines*; elle n'existe qu'à l'état de traces dans le plasma. Elle constitue, par contre, la totalité des globulines du sérum et semble apparaître à la suite de la gélification du fibrinogène. Son point iso-électrique est aux environs de pH 4,4. Elle coagule entre 69° et 75° ;

3° Enfin une troisième, l'*hémocyanine,* qui précipite à 75 % de saturation par le sulfate d'ammonium ou après une dialyse

prolongée (huit à dix jours). Son point iso-électrique est au voisinage de pH 3,6. Elle coagule entre *64° et 65°*.

Le taux de ces différentes fractions varie d'une espèce à une autre. Il varie aussi avec les différents états physiologiques de l'animal.

Nous avons vu qu'à l'époque de la mue on observe chez les crustacés décapodes une augmentation considérable des substances protéiques du plasma, augmentation portant surtout sur la fraction *fibrinogène*.

L'équilibre des constituants protéiques du plasma des crustacés décapodes est facilement détruit. Une hémorragie, une saignée, une injection de corps étrangers, une maladie spontanée, un séjour enfin dans de l'eau mal aérée, sont des conditions suffisantes pour faire baisser considérablement le taux des substances protéiques coagulables par la chaleur, pour empêcher la gélification parfois, et faire disparaître l'hémocyanine d'autres fois.

Nous insistons sur cette observation, car, comme nous l'avons déjà dit dans ce mémoire, il est absolument indispensable avant toute expérience d'immunisation de contrôler le sang des animaux devant être inoculés et de voir (par la détermination de l'index réfractométrique, de la cogulabilité et l'examen en goutte suspendue) si la composition de leur plasma correspond aux chiffres moyens que nous avons donnés pour les animaux à l'état normal.

Le plasma de tous les crustacés décapodes examinés ne contient ni des *albumoses* ni des *peptones*, il contient des traces d'azote non protéique, représentées par l'*acide urique* et l'*urée*.

Nous n'avons pu mettre en évidence le *glucose* dans le plasma d'astacus que si ce dernier était fraîchement récolté ; un ferment glycolytique semble détruire le glucose dans les premières heures qui suivent la saignée.

Le dosage des lipoïdes nous a montré que le plasma des crustacés décapodes contenait de la *cholestérine* libre, *0,45 ‰* chez l'astacus, *0,12-0,18 ‰*, chez l'eupagure et la maïa ; des lipoïdes phosphorés en assez grande quantité (0,543 ‰ chez l'eupagure, 0,35 ‰ chez la maïa) et des acides gras (0,495 ‰ chez l'eupagurus, 0,60 ‰ chez la maïa).

Le pH du plasma de toutes les espèces étudiées varie entre 7,5 et 7,8 à l'état normal, il s'élève à 8,4 au moment de la calcification de la carapace.

Le Δ du sang d'astacus est égal à environ *— 0,60* ; celui des crustacés décapodes marins varie de *— 2,025* à *— 2,1*, celui de l'eau de mer à Roscoff étant égal à *— 2,01*.

L'examen du plasma des crabes sacculinés, fait comparativement à celui des crabes normaux, nous a permis de constater que les substances protéiques coagulables par la chaleur augmentent nettement chez les crabes sacculinés, mais que cette augmentation est encore plus évidente chez les animaux qui ont perdu leur sacculine externe. C'est surtout la fraction pseudo-globuline qui varie son taux, s'élevant de *0 gr. 31* à *2 gr. 32* % chez les animaux éloignés de la mue et de *2 gr. 13* à *3 gr. 90* % chez ceux qui sont en période de mue.

BIBLIOGRAPHIE

1. Cantacuzène (J.) : « Formation d'hémolysine dans le sérum des *Maïas squinado* inoculées avec des hématies de mammifères » (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXIII, 151-152.
2. Id. : « Existence dans le sérum d'une substance antagoniste qui empêche ou retarde l'hémolyse » (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, LXXXV, 970).
3. Id. : « Cytolysines et cyto-agglutinines provoquées par l'inoculation du liquide cavitaire de *Sipunculus nudus* chez *Maïa squinado* » (*C. R. Soc. Biol.*, 1923, LXXXIX, 266).
4. Chahowitch : « Contribution à l'étude de l'immunité chez les crustacés décapodes. Effets de l'action des cellules microbiennes *in vivo*. Existence d'une immunité naturelle antitoxique chez les crustacés décapodes » (*Annales Soc. lyon.*, Lyon, 1924, LXX, 96).
5. Clark : *The determination of Hydrogen ions*, 1925, seconde édition, Williams et Wilkins.
6. Damboviceanu (A.) : « Quelques recherches sur les propriétés agglutinantes et précipitantes du sang *d'Anodonta cyanea* » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, XCI, p. 276).
7. Id. : « Sur les caractères physico-chimiques du sang de l'*Anodonte* » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, XCI, p. 739).
8. Id. : « Recherches sur quelques constituants physico-chimiques du sang *d'Hélix pomatia* » (*C. R. Soc. Biol.*, 1923, LXXXIX, 2, p. 261).
9. Id. : « Détermination de certains constituants du plasma de *Sipunculus Nudus* au cours de l'immunisation » (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, XCV, 2, p. 115).
10. Id. : « Variations des substances protéiques coagulables par la chaleur dans le plasma des *Carcinus maenas* normaux et sacculinés » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, XCVIII, 1, p. 1633).
11. Id. : « Modifications physico-chimiques du plasma *d'Astacus fluviatilis* au moment de la mue » (*C. R. Soc. Biol.*, 1929, C, 900).
12. Halliburton (W.) : « On the blood of decapod crustaceea » (*Journ. of Physiol.*, 1885, vol. 6. Cité d'après Winterstein : *Handbuch der vergleichenden Physiologie*, Bd. I, Ite Hf.).
13. Heim : *Etude sur le sang des crustacés décapodes*, thèse citée d'après Winterstein, etc.
14. Howard Brown (J.) : « The colorimetric determination of the H ions concentration of smal amounts of fluid » (*Journ. Laborat. and clinic. Medic.*, 1924, IX).
15. Lévy (R.) : « Sur la toxicité des tissus de la sacculine vis-à-vis du crabe *(Carcinus Maenas)* et sur la recherche des réactions d'immunité chez ce dernier » (*Bull. Soc. Zool.*, Paris, 1923, XLIII, 291).

16. Lévy (R.) : « Sur la constatation de différences d'ordre physico-chimique entre le sérum des crabes sacculinés et celui des crabes normaux » *Bull. Soc. Zool.*, Paris, 1924, XLIX, 333).
17. Loeb (Leo) : « Ueber die Blutgerinung bei Wirbellosen » (*Biochem. Zeit.*, 1910, XXIV, p. 478).
18. Michaelis (L.) : *Praktikum der physikalischen Chemie*, 1921, Julius Springer, Berlin.
19. Nolf (P.) : « Contribution à l'étude du sang des crustacés » (*Arch. intern. de Physiol.*, 1909, VII, p. 411).
20. Nolf (P.) : « Contribution à l'étude du sang des crustacés » (*Ibid.*, p. 280).
21. Nolf (P.) : « Contribution à l'étude du sang des crustacés » (*Ibid.*, p. 379).
22. Tait (John) : « Type of crustacea blood coagulation » (*Journ. of the marine Biol. Assoc.*, 1911, IX, p. 19). Cité d'après Winterstein.
23. Tait (J.) et Gunn (J.) : « The blood of Astacus fluviatilis, a study in crustaceea blood, with special referrence to coagulation and phagocytosis » (*Q. J. Exp. Physiol.*, 1918, XII, p. 35).
24. Todd (Charles) : « On the electrical behaviour of bacteriophage » *British Journ. of exp. pathol.* 1927, VIII, p. 369).

RECHERCHES SUR LA MORPHOLOGIE DU BACILLE DU TÉTANOS

par

P. CONDREA

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest. Professeur J. Cantacuzène.)

Le microbe du tétanos, d'après les données classiques, est connu comme un microorganisme anaérobie de forme bacillaire à bouts arrondis, mobile, cilié, sporulé, ne donnant pas des colonies caractéristiques dans les milieux solides usuels [**1, 2, 3, 4**]; ensemencé par piqûre profonde en gélose, il produit une culture homogène, peu caractéristique ou entourée de fines ramifications ayant l'aspect général d'une plume d'oiseau, ou d'un sapin avec les branches renversées [**3**]. On ne trouve pas souvent, dans les traités classiques, une description des caractères morphologiques des colonies isolées en milieu solide; Besson [**4**] décrit de la façon suivante les colonies isolées en gélatine (tube de Vignal) : « Vers le cinquième jour, apparition de petits points blanchâtres, formant bientôt des sphères nuageuses d'où partent de fins rayons disposés en houppes. » Tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître la présence de nombreux cils péritriches et la mobilité du microbe. Dans les derniers temps, on a isolé des bacilles tétaniques aciliés, immobiles, pathogènes et toxigènes [**5**]. Récemment [**6**], nous avons pu constater la coexistence de ces deux variétés, mobile et immobile, dans plusieurs souches pures du bacille tétanique; nous avons mis en évidence, pour la première fois, les caractères morphologiques distinctifs des colonies

isolées de ces deux types, en insistant sur la morphologie macroscopique des colonies en milieu solide; en même temps, nous avons indiqué une méthode qui permet l'isolement facile et rapide de ces deux races, en partant d'une culture mixte.

Dans le présent mémoire, nous nous proposons de donner une description détaillée de notre méthode de culture et d'isolement, des caractères macroscopiques et microscopiques des colonies isolées, en gélose profonde, et de la morphologie de ces deux races du bacille tétanique. Nos recherches actuelles portent sur un nombre de 104 souches microbiennes isolées en Europe, en Amérique ou en Asie (1).

*
**

Technique. — Nous avons exclusivement employé dans nos recherches, comme milieu de culture, le bouillon de viande de bœuf peptonisé à 1 %, gélosé en différentes proportions (de 0.25 à 4%) à pH 7.

Nos recherches préliminaires nous ont démontré que la concentration en gélose a une très grande importance, par la consistance qu'elle confère au milieu. Une consistance trop élevée s'oppose au libre développement des colonies, même si elles sont très isolées (une à trois dans un même tube). En même temps, leurs caractères morphologiques distinctifs s'atténuent à tel point que, même après plusieurs passages, on n'observe que des colonies de dimensions très réduites. Ces colonies, examinées à l'œil nu, ou même à la loupe, ne présentent presque pas les caractères morphologiques qui distinguent les variantes, ou bien leurs caractères sont considérablement effacés.

Nous devons employer, par conséquent, un milieu dont la consistance soit minime, qui permette le développement libre et rapide des colonies isolées, avec tous leurs caractères spécifiques, et qui toutefois empêche la sédimentation des germes sous l'action de leur propre poids. Un tel milieu a aussi l'avantage de permettre la dissolution des gaz produits par la fermentation micro-

(1) La plupart de ces souches microbiennes ont été gracieusement mises à notre disposition par l'Institut Lister de Londres, l'Institut Pasteur de Paris et la Faculté de Médecine vétérinaire de Bucarest. Nous sommes heureux d'avoir l'occasion d'adresser nos remerciements à M. R.-St.-John Broocks, curator of National Collection of type cultures de l'Institut Lister, à MM. Legroux, Loiseau et Ramon, de l'Institut Pasteur de Paris, et à M. le professeur P. Riegler, de Bucarest.

bienne et de ce fait n'est pas soumis à l'éclatement de la colonne de gélose, ce qui arrive presque régulièrement avec des milieux plus consistants. Cette propriété nous permet, en outre, de pratiquer très facilement toutes les manipulations nécessitées par l'isolement.

Le bouillon gélosé à 0,5 % (gélose semi-solide) remplit parfaitement toutes ces conditions et nous l'avons adopté dans nos recherches (1).

La préparation de ce milieu est des plus simples : le bouillon de viande de bœuf est peptonisé (Witte) à 1 % et additionné de gélose à 0,5 %; on ajuste la réaction du milieu à un pH-7 avec une solution de carbonate de soude. Après l'adjonction à chaud d'un blanc d'œuf, pour la clarification, on filtre et on stérilise; on contrôle le pH et on le corrige éventuellement ; on fait la distribution dans des tubes pour culture anaérobie (diamètre, 1 centimètre ; hauteur, 17 centimètres) (2), qu'on stérilise trente minutes à 110°.

Avant l'emploi, on chauffe les tubes au bain-marie trente minutes à 100° pour liquéfier le milieu et chasser l'air. On le plonge ensuite dans l'eau tiède à 50-60°, et après l'ensemencement on provoque la solidification brusque du milieu par l'immersion des tubes dans de l'eau froide. Cette dernière manipulation empêche l'air atmosphérique de diffuser dans le milieu et de cette manière, après vingt-quatre heures d'incubation à 37°, le développement est très abondant et monte jusqu'à 1 et 1 cm. 5 de la surface libre.

Pour obtenir des colonies isolées, on fait l'ensemencement avec une pipette Pasteur dans huit à dix tubes avec des dilutions progressives, en partant d'une culture pure en bouillon ou en gélose 0,5 %, après avoir liquéfié cette dernière par chauffage au bain-marie trois à cinq minutes à 100°. En procédant de cette manière, les derniers tubes restent stériles ou contiennent tout au plus une à trois colonies isolées; la faible consistance du milieu permet le prélèvement facile, avec une pipette Pasteur, de la colonie qui nous intéresse, au besoin on peut couper le tube au niveau voulu, avec un trait de lime. Avec cette technique, nous avons réussi à faire l'isolement du bacille tétanique directement des plaies infectées et à obtenir des cultures pures en quarante heures.

(1) Ce milieu a été déjà employé par les auteurs américains pour l'isolement de certains microbes anaérobies [**10**].

(2) Modèle communiqué par M. le professeur Weinberg, de l'Institut Pasteur de Paris.

Pour analyser d'une façon plus précise la structure et le développement des différents types de colonies observées, nous avons aussi utilisé la méthode des inclusions en paraffine de la colonne de gélose, que nous avons ensuite débitées en coupes sériées. Voici la technique employée :

On coupe le tube et on prélève le fragment désiré; après fixation pendant quarante-huit heures dans le liquide de Bouin, on passe les pièces successivement dans l'alcool de 70° et 96°; on se débarrasse de l'alcool éthylique par passage dans plusieurs bains d'alcool amylique (quatre à cinq heures); on pratique l'inclusion dans de la paraffine, sans passage préparatoire dans le xylol ou le toluol; on peut obtenir facilement des coupes de 5 à 10 μ; les coupes plus fines ne donnent pas des images démonstratives. Pour la coloration des coupes, on procède comme pour les préparations histologiques habituelles.

***

RECHERCHES PERSONNELLES

En partant d'une souche de bacilles du tétanos provenant de l'Institut Pasteur de Paris et utilisés dans notre laboratoire pour la préparation de la toxine tétanique, nous avons observé dans les cultures faites en gélose 0,5 % l'apparition de *deux sortes de colonies* nettement différenciées tout aussi bien par leur forme que par leurs dimensions : un premier type de colonie compacte, opaque, de forme lenticulaire, de dimensions réduites (0,5 à 1 millimètre de diamètre); un deuxième type de colonie sphérique, avec un point central presque opaque, entouré d'un halo d'une transparence nuageuse.

1. — La colonie compacte et lenticulaire (type *L*), transplantée dans la gélose 0,5 %, donne naissance toujours au même type de colonie; dans les nombreux passages que nous avons pratiqués, nous n'avons jamais observé aucune variation au point de vue morphologique. Après vingt-quatre heures d'incubation à 37°, on observe l'apparition dans les tubes de culture d'une poussière très fine de colonies opaques, punctiformes; si les colonies sont assez isolées, cinq à dix sur la longueur du tube, elles continuent leur développement les jours suivants; le troisième jour, on peut très bien observer leur forme lenticulaire, même à l'œil nu (fig. 1) ;

elles augmentent peu à peu de volume, pour arriver vers le septième jour à un diamètre de 1 à 1 mm. 5, qu'elles ne dépassent jamais. On observe quelquefois, sur les faces de la lentille, l'apparition d'une demi-lentille dont le grand diamètre est perpendiculaire à celui de la première colonie; cette formation est constituée par deux lentilles se pénétrant comme deux cristaux maclés. Aucun trouble du milieu n'apparaît autour de cette colonie et, même après une incubation prolongée des cultures (vingt à trente jours), *on n'observe jamais des colonies-filles ou d'autres modifications appréciables du milieu.* Si la colonie est tout à fait marginale et, pendant son développement, touche la paroi du tube, alors la culture se propage dans la mince couche de liquide qui existe entre le cylindre de gélose et le verre (fig. 8); dans ces cas, tout le manchon liquide est contaminé, il prend un aspect trouble et la colonne de gélose semble avoir cultivé dans toute sa hauteur; mais ce n'est que la surface de la gélose qui est infectée, elle reste stérile dans toute sa profondeur (fig. 8). La forme de ces colonies n'est pas modifiée en aucune façon par le repiquage successif, même journalier; la modification de la consistance du milieu ne modifie pas leur forme; repiquées successivement dans la gélose de 0,25 à 2 %, leur forme n'est pas modifiée; par contre, on constate dans les milieux moins consistants que leur développement est plus rapide et, vers le quatrième, le cinquième jour, les colonies arrivent à leur développement maximum ; les milieux dont la concentration en gélose est au-dessous de 0,3 % ont une consistance trop faible pour pouvoir supporter le poids de cette colonie compacte, arrivée à sa maturité. Dans ces milieux, vers le troisième jour d'incubation, on voit que ces colonies émettent à leur partie inférieure de très fins prolongements nuageux et la colonie prend l'aspect d'une petite houppe ou d'un pinceau; nous supposons qu'il s'agit d'une modification de la consistance du milieu par l'action fermentative du microbe. Dans les milieux glucosés à 1 %, la forme des colonies n'est pas modifiée, mais le développement est plus rapide et les colonies acquièrent des dimensions un peu plus grandes.

L'examen microscopique des coupes pratiqué dans ces colonies permet de nous rendre compte de leur structure intime; dans les coupes perpendiculaires à la surface de la colonie, on voit très bien sa forme nettement lenticulaire; les doubles colonies pénétrantes nous donnent l'image d'une croix avec la bordure des bras nettement recourbée. A un faible grossissement, on voit dans chaque colonie adulte plusieurs zones concentriques (fig. 6 et 7) :

une zone centrale habituellement moins condensée, entourée d'une zone plus opaque; celle-ci est entourée à son tour par une zone plus claire; la périphérie est toujours limitée par une bande presque opaque. Les bandes claires sont plus larges dans les milieux à faible consistance. Les différences d'aspect correspondent à la richesse en microbes de chaque zone et sont dues, comme nous verrons plus loin, à la variation de la vitesse d'expansion de la colonie. Les bacilles ont une tendance appréciable à la disposition radiée. La périphérie de la colonie est irrégulièrement dentelée, présentant de petites expansions. *A un grossissement plus fort, on ne voit aucun microbe autour de cette colonie; même dans la proximité immédiate de ces colonies, le milieu reste stérile*; la colonie n'émet jamais des ramifications et, dans les divers passages faits pendant une année, nous n'avons observé aucune modification des caractères de cette variété de bacilles tétaniques.

A l'examen microscopique d'une culture fraîche de ce type en bouillon glucosé, nous avons invariablement constaté *que ces germes sont immobiles*. Pour éviter toute objection à cet égard, nous avons contrôlé l'immobilité par la méthode au sulfate d'argent (Zetnow) pour la mise en évidence des cils. Par ce procédé, on voit que les cultures de quarante-huit heures en bouillon provenant de ces colonies lenticulaires sont formées exclusivement par des bâtonnets courts, d'une longueur de 2 à 3 μ, droits, à bouts arrondis et *ne présentant jamais de cils* (fig. 9 et 10). Pour le contrôle de la méthode d'imprégnation, nous utilisions simultanément sur la même lamelle un type de bacille tétanique cilié. L'identification de ce type de colonie est complété en outre par la recherche de leur pouvoir toxigène et pathogène pour la souris et le cobaye. *Il s'agit indiscutablement d'un bacille tétanique immobile, acilié, toxigène et pathogène.*

2. — Un deuxième type *(D)* de germes est caractérisé par une colonie ayant la morphologie suivante : toutes les colonies de ce type possèdent un point central opaque de dimensions réduites (au-dessous d'un millimètre) entouré de zones concentriques nuageuses, plus ou moins rapprochées; ces zones sont séparées par des cercles un peu plus opaques; la zone périphérique est toujours plus transparente que les zones centrales et assez mal délimitée (fig. 4 et 5); le diamètre de cette colonie isolée atteint facilement de 5 à 8 millimètres; si les colonies sont assez nombreuses dans le même tube, elles deviennent confluentes vers le cinquième

jour; mais si elles sont très rares (une à trois), elles augmentent rapidement de dimensions; dans les deux cas, vers le cinquième ou le sixième jour, on observe la diffusion de la culture tout le long de la colonne de gélose, qui se trouble d'une façon homogène, jusqu'à une distance de 1 à 1 cm. 5 de la surface exposée à l'air. Très rarement et seulement au premier repiquage, on observe autour d'une colonie unique initiale l'apparition d'une auréole de colonies-filles, dont l'évolution ultérieure est identique à celle des colonies primitives. Le repiquage, répété chaque jour, modifie un peu l'aspect de cette colonie; le point central opaque diminue peu à peu et disparaît vers le cinquième passage; l'augmentation de volume et la diffusion sont plus rapides. Cultivées dans des milieux avec une plus grande consistance (gélose, 2 %), leur développement est plus lent, le point central plus accentué, la diffusion est tardive et peut même, au premier repiquage, faire défaut. Dans la gélose à 0,25 %, on n'observe plus la formation de colonies isolées; la culture diffuse d'emblée, comme dans un milieu liquide.

La partie supérieure de la colonne cultivée est limitée par une bande horizontale un peu plus opaque; les jours suivants, on observe l'apparition d'une autre bande superposée plus claire, de 2 à 3 millimètres, qui s'opacifie à sa partie supérieure. Ce phénomène se répète trois ou quatre fois et la colonne cultivée continue à monter par poussées successives jusqu'à une distance de 2 à 3 millimètres de la surface libre.

A l'examen microscopique des coupes, on voit que ces colonies sphériques et diffuses sont formées par un petit amas microbien central qui est entouré sans transition par une zone où la culture présente un aspect diffus et homogène, dans laquelle les bacilles ne présentent aucune disposition particulière (fig. 17, 18, 19). Les zones supérieures de la colonne au niveau des bandes diffuses et transparentes sont constituées par des bacilles répartis d'une manière uniforme, tandis qu'au niveau des bandes opaques on observe en outre des petites agglomérations bacillaires en nombre variable (fig. 20).

L'examen microscopique d'une culture de quarante-huit heures en bouillon glucosé nous a démontré qu'il s'agit d'un bacille d'une longueur moyenne de 3 à 7 μ (fig. 22), sporulé et *très mobile*. Nous faisons remarquer à cette occasion que nous avons constaté *la présence de bacilles sporulés très mobiles*, fait contesté par certains auteurs. Dans ces cas, le bacille progresse indifféremment avec le bout sporulé ou celui non sporulé. La coloration par la

méthode de Zetnow nous a permis de mettre en évidence chez ce deuxième type de bacille *un grand nombre de cils péritriches (de dix à cent cils)* très ondulés et qui ont une longueur moyenne de 4 à 10 μ et se détachent assez facilement au cours des manipulations (fig. 21).

Il résulte donc que les deux formes du bacille tétanique, mobile et immobile *(L et D)*, correspondent à deux types de colonies très bien caractérisées et très différentes au point de vue macroscopique et microscopique. *Le halo homogène translucide et la diffusion dans le milieu caractérisent la colonie du bacille mobile. La colonie compacte, opaque, lenticulaire, et l'absence totale de diffusion dans les milieux de faible consistance caractérise le bacille immobile.*

3. — Au cours de nos recherches, nous avons observé dans quelques tubes de certaines souches du bacille immobile à colonie lenticulaire l'apparition d'une ou deux colonies qui, par leurs caractères, s'éloignent plus ou moins de la forme typique lenticulaire. Nous avons constaté la présence exclusive de ces formes aberrantes *(L_a)* dans des cultures pures du bacille immobile provenant de l'Institut Lister. Voici en quelques mots les caractères de ces formes immobiles qui les éloignent jusqu'à un certain degré du type *L*, décrit plus haut.

Nous groupons ces variantes en deux formes extrêmes, rencontrées au cours de nos recherches : un premier sous-type *(L_a)* est caractérisé par une colonie sphérique compacte et complètement opaque; à sa périphérie, elle est hérissée d'épines, offrant l'aspect d'un fruit de châtaignier, elle est plus volumineuse que la colonie lenticulaire, mais son diamètre ne dépasse jamais 3 millimètres (fig. 3.) L'aspect microscopique de cette colonie ne diffère de celui de la forme typique que par l'irrégularité de sa périphérie, qui présente de nombreux prolongements massifs (fig. 13).

Un deuxième sous-type *(L_a)* est représenté par une colonie sphérique, volumineuse, d'un diamètre de 1 à 8 millimètres. Elle est constituée par un fin réseau étoilé donnant l'aspect d'une colonie de fruits de pissenlit. Plus l'ensemencement est abondant, plus les colonies sont nombreuses et leurs dimensions réduites; elles nous offrent, dans le dernier cas, l'aspect d'une suspension de flocons de neige dans un milieu clair (fig. 2). Le repiquage de ce type de colonie dans des milieux plus consistants de gélose de 0,5 à 2 % provoque la diminution de leurs dimensions et

l'apparition du point central compact, ce qui les rapproche du premier sous-type aberrant. Quel que soit le nombre de ces colonies de type lenticulaire aberrant dans le même tube, *elles restent constamment isolées pendant tout le cours de leur développement ultérieur et ne diffusent jamais dans le milieu de culture.* Leur périphérie est toujours très nettement délimitée (fig. 2, 3, 11, 12, 13).

L'examen microscopique des coupes pratiquées dans ces colonies nous montre qu'elles sont formées de petites agglomérations bacillaires constituées d'un réseau de fines branches enchevêtrées. Ces agglomérations ont une forme polyédrique étoilée et à leur périphérie émettent de très fins prolongements, formés de quelques éléments microbiens filamenteux qui, très souvent, aboutissent à un autre amas polyédrique. *L'espace limité par ces formations est dépourvu de microbes, aussi bien que tout le milieu environnant la colonie totale* (fig. 11, 12, 13).

A l'examen microscopique d'une culture de quarante-huit heures (en bouillon glucosé) de ce troisième type de germes, nous avons constaté qu'il s'agit d'un bacille également *immobile, acilié, sporulé,* mais dont les caractères morphologiques sont nettement différenciés de ceux du bacille immobile à colonie lenticulaire : les éléments microbiens sont représentés par de longs filaments sinueux dont la taille atteint 8 à 60 μ et plus, qui sont disposés fréquemment en longues chaînes. Nos observations, portant sur diverses variétés de ces races du bacille tétanique, nous permettent d'affirmer que la forme des colonies est en relation directe avec la forme du bacille; les ramifications sont d'autant plus nombreuses et plus grandes que l'individu constituant ces colonies est plus long, filamenteux, sinueux et montre la tendance de se disposer en chaînettes (fig. 14, 15, 16) (1).

***

Les deux types du germe décrits plus haut, de même que les sous-types dont nous venons de parler, diffèrent en plus entre

(1) Il est probable qu'à ces différents types de bacilles tétaniques correspondent des colonies tout aussi nettement différenciées par leur mode de développement dans des cultures en surface. Récemment, J. Fortner [8], essayant de différencier certains germes anaérobies d'après les caractères de leurs colonies en surface, sur milieu solide (gélose au sang), décrit entre autres deux souches du bacille tétanique, qui donnent des colonies tout à fait différentes; d'après les photographies publiées, nous croyons qu'il s'agit d'une souche mobile (souche Alt) et d'une souche immobile (souche Höchst).

eux par leur mode de sporulation. Nous avons observé qu'elle est plus précoce et plus abondante chez les races mobiles; plus tardive et un peu moins abondante chez la race immobile à colonie lenticulaire. La sporulation des cultures du bacille long et sinueux à colonies ramifiées est beaucoup plus tardive et moins abondante; nous n'avons jamais observé dans ces filaments, comme certains auteurs l'ont affirmé, la présence de nombreuses spores formant des chaînes presque continues; les spores ont une forme généralement ronde, très rarement et probablement avant leur maturité, elles ont une forme ovoïde. Elles sont généralement terminales, mais nous avons aussi constaté exceptionnellement la présence de spores sous-terminales ou même médianes.

En ce qui concerne le développement des colonies de bacilles tétaniques, nous avons observé en plus, un phénomène commun aux races mobiles et immobiles : les colonies ne se développent pas d'une manière continuellement progressive; l'augmentation de volume pour les colonies des races immobile et mobile et la diffusion en hauteur de la race mobile se font par *poussées successives*; à chaque poussée correspond morphologiquement une bande plus claire et à chaque arrêt une bande opaque (fig. 5, 6, 7). Pendant l'arrêt du développement, il semble que les bacilles ne cessent de se multiplier, mais forment des amas plus compacts, comme si les conditions de multiplication étaient moins favorables dans l'espace adjacent. Pour les bandes progressives dans les couches supérieures, il est probable que l'arrêt de la progression est provoqué par la présence de l'oxygène; on dirait que la population du germe, se multipliant en un endroit donné de la colonne de gélose, doit arriver à une certaine densité nécessaire pour la réalisation d'une plus stricte anaérobiose dans la zone immédiatement environnante, qui puisse de la sorte permettre la progression de la culture dans une couche supérieure plus riche en substances assimilables. Le même mode de développement des colonies au fond de la colonne doit, d'autre part, être conditionné par des modifications d'ordre fermentatif que le milieu subirait de la part des bacilles pendant leur évolution; cette modification se fait par étapes successives.

Le matériel que nous avons utilisé pour ces recherches est constitué par 104 souches pures du bacille tétanique provenant, comme nous l'avons déjà dit, de plusieurs Instituts d'Europe. 95 de ces souches sont constituées exclusivement par des bacilles *mobiles* : 88 proviennent de la collection de l'Institut Lister de Londres, 4 de l'Institut Pasteur de Paris, 2 de l'Institut vétéri-

naire de Bucarest, une a été récemment isolée par nous-même à Bucarest. Trois souches sont formées exclusivement par des bacilles immobiles (type L_a, à colonie ramifiée), elles proviennent également de la collection de l'Institut Lister. Les six autres souches restantes sont des *souches mixtes,* c'est-à-dire formées de bacilles mobiles et immobiles : quatre de ces souches étaient constituées par des bacilles mobiles et immobiles à colonies lenticulaires (2 de l'Institut Pasteur de Paris, une de l'Institut Lister de Londres, une de l'Institut vétérinaire de Bucarest). Dans les deux autres souches (Institut Pasteur de Paris) coexistaient : la race mobile, la race immobile à colonie lenticulaire, et l'immobile à colonie ramifiée; comme on le voit, la plupart des souches étaient constituées par des races mobiles pures.

Il est possible que la coexistence des deux races, mobile et immobile, soit beaucoup plus fréquente que nous ne l'avons pu constater; le repiquage répété d'une culture mixte dans un milieu solide, par le seul fait de la diffusion de la race mobile, peut déterminer l'isolement involontaire de celle-ci, surtout si on fait les prélèvements à la partie supérieure du tube (1). La coexistence de ces deux types pourrait expliquer les divèrgences d'opinions qui existaient jusque dans les derniers temps, sur la mobilité du bacille du tétanos.

Etudiant les propriétés fermentatives de ces différentes races de bacilles tétaniques, nous n'avons observé aucune différence. En cultivant ces bacilles dans des milieux ayant subi la fermentation par les bacilles coli ou par le bacille perfringens, dépourvus donc de sucre, on observe une abondante formation de gaz; dans les tubes de bouillon, on observe la formation de petites bulles, qui adhèrent aux parois du tube; à la surface du liquide apparaît une légère écume et le bouchon de paraffine solide est poussé en haut. Dans de la gélose à 0,5 %, on observe la formation de nombreuses bulles fines dans le liquide entourant la colonne de gélose et une légère mousse à la surface. Dans des milieux plus consistants, on observe l'éclatement de la colonne de gélose vers le deuxième ou le troisième jour ; les gaz ont l'odeur caractéristique de la corne brûlée. Cette formation des gaz n'est pas plus abondante dans les milieux glucosés. Cultivant

(1) Les nouvelles techniques employées en bactériologie, se basant sur la mobilité du bacille tétanique (technique de P. Fildes) [**9**], aboutissent à l'isolement exclusif de la race mobile, de sorte que la présence du bacille immobile risque de passer inaperçue par l'emploi répandu de cette seule méthode.

ces microbes dans le bouillon glucosé tournesolé, celui-ci est complètement décoloré au bout de deux jours, *sans avoir viré vers le rouge* ; cette décoloration est aussi complète, mais plus lente, si le milieu est dépourvu de glucose. Mais, si on enlève le bouchon de paraffine et on fait barboter avec de l'air le bouillon cultivé incolore, la coloration primitive améthyste fait de nouveau son apparition en deux ou trois minutes. La gélose tournesolée, glucosée ou non glucosée, est décolorée tout aussi complètement et encore plus rapidement. Mais la partie supérieure non cultivée reste colorée, sans virer vers le rouge. Une fois le développement complet, la recoloration commence; elle est tout à fait complète au bout de deux ou trois semaines. Le même phénomène se produit plus rapidement dans les milieux colorés au bleu de méthylène. Il s'agit donc non d'un virage au rouge de tournesol, par fermentation acide, mais d'une *transformation en leuco-colorant, réversible par l'action de l'oxygène.*

Procédant au titrage chimique du glucose dans le milieu, avant et dix jours après l'ensemencement, *nous n'avons observé aucune différence appréciable.* Il résulte donc que le bacille du tétanos ne fermente pas le glucose. L'adjonction de glucose au milieu de culture facilite seulement le développement du bacille par son action de présence comme corps réducteur de l'oxygène.

En ce qui concerne le pouvoir toxigène, nous avons constaté des différences notables entre les races mobiles et immobiles [7]. La race mobile est de beaucoup plus toxique que la race immobile provenant d'une même souche. Ces différences sont constantes dans le matériel examiné par nous. D'ailleurs, nous croyons savoir que toutes les souches du bacille tétanique utilisées à la préparation de la toxine tétanique dans les différents Instituts de Londres, Paris, Utrecht, Copenhague ou Bucarest, sont constituées soit par des cultures pures du bacille mobile, soit par des cultures mixtes de bacille mobile et immobile; aucune de ces souches n'est constituée par le bacille immobile à l'état de pureté.

Dans un autre mémoire, nous exposerons les résultats de nos recherches sur les propriétés antigéniques de ces races du bacille du tétanos.

CONCLUSIONS

Le bacille tétanique (bacille de Nicolaïer) se présente sous deux types différents : la forme mobile ciliée et la forme immobile dépourvue de cils.

A chacune de ces formes correspond une colonie caractéristique : pour la forme mobile, la colonie sphérique d'un aspect nuageux transparent, *diffusant rapidement dans tous les milieux solides;* pour la forme immobile, une colonie lenticulaire, opaque, compacte ou ramifiée, nettement délimitée, *sans aucune tendance de diffusion dans les milieux solides, même de très faible consistance.*

Il existe donc une relation intime entre les caractères morphologiques et biologiques de ces germes et l'aspect macro et microscopique de leurs colonies. Ce fait est encore plus démonstratif quand il s'agit des variétés du bacille immobile à colonie ramifiée.

Dans certaines souches de bacilles tétaniques, on trouve ces deux races associées. Dans le matériel utilisé par nous, la fréquence de cette association est de 6 % ; cette coexistence pourrait être beaucoup plus fréquente dans les cultures impures fraîchement isolées.

Les différentes souches microbiennes étudiées par nous sont incapables de fermenter le glucose; elles décolorent complètement le tournesol sans le virer vers le rouge et décolorent encore plus facilement le bleu de méthylène. Ce fait se produit en présence ou même en l'absence du glucose. Il s'ensuit que le tournesol ne peut pas être employé comme indicateur du pouvoir fermentatif du bacille du tétanos dans les milieux sucrés.

L'adjonction de glucose au milieu de culture facilite le développement du bacille du tétanos en sa qualité de corps réducteur. de l'oxygène.

Les races mobiles du bacille tétanique sont plus toxigènes que les races immobiles provenant des mêmes souches.

⁂

Note. — Dans les derniers temps, nous avons étendu le champ de nos recherches à l'étude d'autres microbes anaérobies. Nous avons eu à notre disposition les souches suivantes : bacille tétanomorphus n° 500 de l'Institut Lister, les bacilles : perfringens,

histolytique, œdematiens et le vibrion septique de l'Institut Pasteur de Paris (mis à notre disposition grâce à l'amabilité de M. le professeur Weinberg).

Dans la souche du bacille tétanomorphus, nous avons retrouvé les deux colonies décrites pour le bacille tétanique : la colonie compacte lenticulaire et la colonie sphérique nuageuse avec tendance à la diffusion. Nous n'avons observé aucune différence morphologique entre ces colonies et celles du bacille tétanique vrai.

Dans la souche du bacille histolytique, nous avons retrouvé les deux colonies caractéristiques des races mobile et immobile, n'offrant aucun caractère macroscopique pouvant les différencier de celles des bacilles tétaniques. Dans les cultures du vibrion septique, nous avons également retrouvé les deux colonies avec les mêmes caractères.

En ce qui concerne le bacille perfringens, nous avons trouvé constamment un seul type de colonie compacte, lenticulaire, identique à celle du bacille tétanique immobile, tandis que pour le bacille œdematiens nous avons trouvé le type de colonie ramifiée (1).

Il nous semble donc qu'on pourrait conclure que la forme des colonies n'est pas strictement spécifique pour les différentes espèces microbiennes étudiées. Il s'ensuit, par conséquent, qu'elles ne sauraient être considérées comme un caractère à utiliser dans le diagnostic d'une espèce. Les différences morphologiques des colonies constatées par nous sont, par contre, en relation avec les caractères morphologiques et les propriétés de mobilité ou de l'absence de mobilité des individus microbiens à l'intérieur d'une même espèce.

BIBLIOGRAPHIE

1. Eisler (M.). — *Tetanus in Handbuch der pathogenen Microorganismen.* Kolle, Hetsch und Uhlenhuth, 3e éd., p. 1028.
2. Lehman-Neumann. — *Bacteriologische Diagnostic.*, 7e éd., München, 1927, p. 651.

(1) Nous n'avons pas encore procédé à l'identification, au point de vue de l'espèce, de ces races isolées; les souches étudiées par nous, provenant des laboratoires où elles avaient été l'objet d'études très compétentes, nous offrent toutes les garanties possibles de pureté. En tout cas, même s'il s'agissait de la coexistence d'espèces microbiennes différentes, ce fait met encore une fois en évidence les avantages de la méthode d'isolement des microbes anaérobies employés au cours de ces recherches.

3. Kolle u. Hetsch. — *Die experimentelle Bacteriologie und die Infections Krankheiten*, Berlin, 1919, p. 563.
4. Besson. — *Technique microbiologique*, Paris, 1921, p. 564.
5. Bauer et Ten Broeck. — Cité d'après A. Félix et Robertson : « Serological Studies, etc. » (*British Journ. of Path.*, 1928, 1er févr., p. 6).
6. Condrea (P.). — « Sur la coexistence de deux formes de bacille tétanique dans certaines cultures pures de ce microbe » (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCIX, p. 1376).
7. Condrea (P.). — « Recherches sur le pouvoir toxique de deux races de bacille tétanique » (*C. R. Soc. Biol.*, 1929, t. C, p. 905).
8. Condrea (P.). — « Sur les caractères microscopiques et pathogènes des bacilles tétaniques » (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCIX, p. 1379).
9. Fortner. — « Zur differenzierung der Anaerobier » (*Zentralb. f. Bakt.*, B. 110, H. 4/5, p. 233).
10. Fieldes (Paul). — « Isolation morphology and cultural reactions of B. Tetani » (*British Journ. of Exp. Path.*, 1925, VI, p. 62).
11. Wadsworth (B.). — *Standard Methods of the division of Laboratories and Research of the New-York State departement of Health*, London, Baillière, édit., 1927.

Fig. 1. — Bacille tétanique immobile ; culture sur gélose 0,5 % ; trois jours d'incubation à 37° ; colonies compactes, lenticulaires opaques.

Fig. 2. — Bacille tétanique immobile ; mêmes conditions ; colonies ramifiées.

Fig. 3. — Même culture, mêmes conditions ; colonies plus rares à plus grandes dimensions.

Fig. 4. — Bacille tétanique mobile ; culture sur gélose 0,5 %, deuxième passage, cinq jours d'incubation à 37° ; colonies sphériques à centre opaque, périphérie nuageuse, diffusion dans le milieu.

Fig. 5. — Même culture ; cinquième passage, sept jours d'incubation à 37° ; colonies sphériques, nuageuses, diffusion dans le milieu. *a)* bandes claires et opaques alternantes.

Fig. 6. — Bacille tétanique immobile. Coupes d'une colonie compacte, lenticulaire, âgée de trois jours. Obj. 10, apochromate Zeiss.

Fig. 7. — Même préparation. Obj. 20.

Fig. 8. — Même souche, mêmes conditions ; colonies marginales, *a)* propagation de la culture dans le liquide environnant et à la surface de la gélose. Obj. 10, apochromate Zeiss.

Fig. 9. — Même souche, culture en bouillon glucosé ; imprégnation à l'argent (Zetnow). Obj. 90, apochromate Zeiss.

Fig. 10. — Même souche, mêmes conditions, coloration au bleu de Lœffler.

Fig. 11. — Bacille tétanique immobile à colonies ramifiées. Cinquième repiquage, incubation trois jours à 37° ; fragments de coupe d'une colonie ramifiée. Obj. 10, apochromate Zeiss.

Fig. 12. — Même préparation. Obj. 20.

Fig. 13. — Bacille immobile ; colonies à petites ramifications ; deuxième passage, ensemencement plus abondant ; colonies très rapprochées à petites ramifications ne se touchant pas. Obj. 10, apochromate Zeiss.

Fig. 14. — Bacille immobile à colonies ramifiées ; culture en bouillon glucosé ; imprégnation à l'argent. Bacille long, sinueux, dépourvu de cils. Obj. 90, apochromate Zeiss.

Fig. 15. — Même préparation ; coloration au bleu de Lœffler. Bacille long, sinueux, disposé en longue chaîne.

Fig. 16. — Bacille tétanique immobile à colonies compactes à petites ramifications ; bacille de longueur moyenne, sinueux, en petites chaînes. Obj. 90, apochromate Zeiss.

Fig. 17. — Bacille tétanique mobile. Culture sur gélose 0,5 % ; premier passage, incubation trois jours à 37° ; coupe par une colonie à centre opaque entourée d'un petit halo nuageux. Obj. 20, apochromate Zeiss.

Fig. 18. — Même souche. Mêmes conditions. Quatrième passage ; centre opaque, invisible à l'œil nu ; diffusion homogène autour de ce centre. Obj. 20, apochromate Zeiss.

Fig. 19. — Même préparation. Obj. 90, apochromate Zeiss.

Fig. 20. — Même souche. Mêmes conditions. Incubation de cinq jours à 37° ; coupe au niveau d'une bande opaque des couches supérieures. Obj. 20, apochromate Zeiss.

Fig. 21. — Bacille tétanique mobile ; culture en bouillon glucosé. Incubation de quarante-huit heures à 37° ; imprégnation à l'argent (Zetnow). Obj. 90, apochromate Zeiss.

Fig. 22. — Même bacille. Mêmes conditions. Coloration au bleu de Lœffler. Obj. 90, apochromate Zeiss.

(1) Toutes les préparations microscopiques, excepté les imprégnations à l'argent, ont été colorées au bleu de Lœffler. Les microphotographies ont été exécutées avec l'appareil Phoku-Zeiss.

FIG. 5.

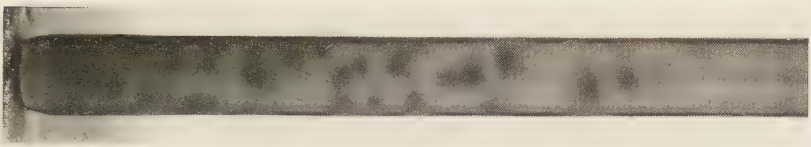


FIG. 4.

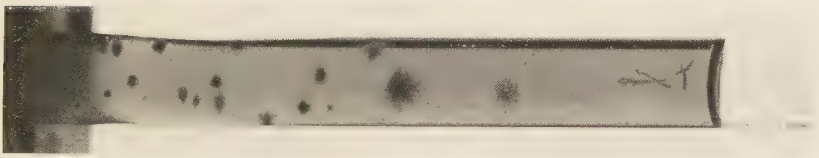


FIG. 3.

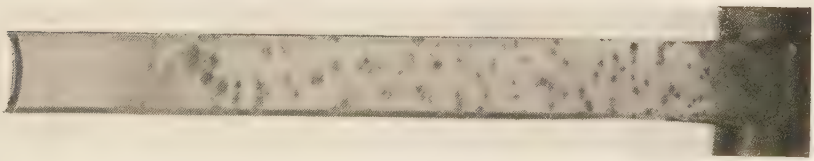


FIG. 2.

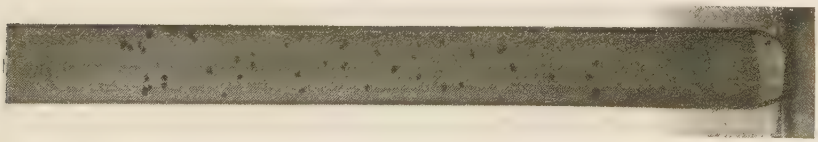


FIG. 1.

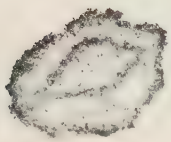


FIG. 6.

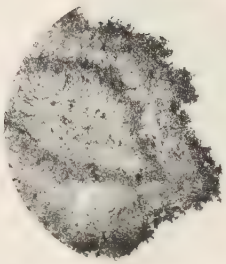


FIG. 7.

FIG. 8.

FIG. 9.

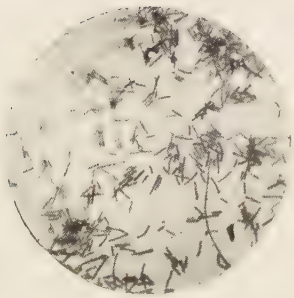


FIG. 10.

MASSON & C^ie^, EDITEURS

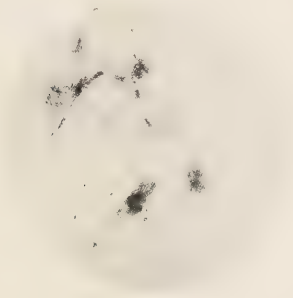


FIG. 11.

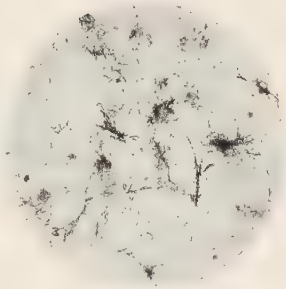


FIG. 12.

FIG. 13.

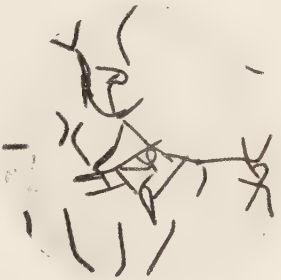


FIG. 14.

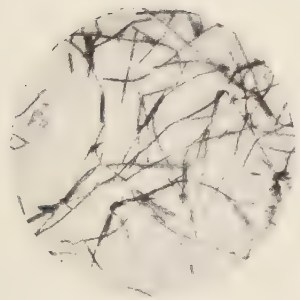


FIG. 15.

FIG. 16.

MASSON & C^ie^, EDITEURS

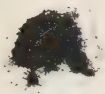


FIG. 17.

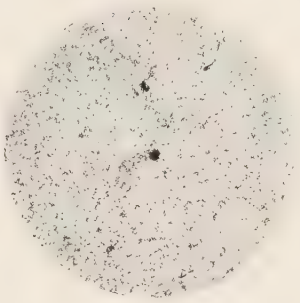


FIG. 18.

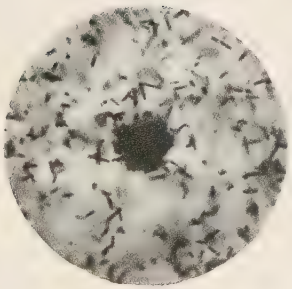


FIG. 19.

FIG. 20.

FIG. 21.

FIG. 22.

MASSON & C^ie^, EDITEURS

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME DU GLUCOSE SANGUIN DANS LA TRYPANOSOMIASE EXPÉRIMENTALE

par

G. ZOTTA et E. RADACOVICI

(Travail du Laboratoire de parasitologie de l'Institut de Sérologie de Bucarest. Professeur J. Cantacuzène.)

Les études de K. Schern sur les trypanosomes labiles et la réactivation des mouvements chez les trypanosomes immobilisés ont conduit cet auteur à deux conclusions :

1° Le rôle exclusif du glucose dans la réapparition des mouvements chez les trypanosomes immobilisés ;

2° Une nouvelle interprétation de la pathogénie de la trypanosomiase. D'après l'hypothèse de Schern, en effet, la trypanosomiase serait surtout une maladie de carence du glucose, due en premier lieu à l'utilisation directe du glucose par les trypanosomes.

Cette hypothèse suppose l'apparition, au cours de l'évolution de la maladie, d'une hypoglycémie caractéristique, évoluant de manière progressive à mesure que les trypanosomes augmentent dans le sang.

En 1927, K. Schern, en collaboration avec Libero Rossi, a publié, à l'appui de son hypothèse, une note mettant en évidence l'apparition d'un état d'hypoglycémie au cours de l'évolution du *mal de Caderas* expérimental chez le cheval et le lapin. La même hypoglycémie avait déjà été constatée en 1926 par A. Dubois et J.-P. Bouckaert chez le cobaye, le lapin et la souris, infectés par le *Trypanosoma brucei Ugandae*, ainsi que par E. Savino, en 1927, chez le chien inoculé avec une souche très virulente de *Trypanosoma equiperdum*.

Les observations de Schern et Libero-Rossi sur la glycémie chez le cheval infecté par le mal de Caderas sont, de l'avis même des auteurs, incomplètes. « Les valeurs du sucre sanguin tombent

d'abord sensiblement au-dessous de la normale, puis le contenu du sang en sucre augmente régulièrement en rapport avec la progression de l'infection, pour arriver, le 16 juillet 1927, au point culminant avec 107 mgr. %...) Ensuite, « la valeur du sucre diminue, mais reste toujours au-dessus de la normale et présente des oscillations en rapport avec la température » (1). Le cheval est mort au cours des expériences et les dosages n'ont pas pu être continués.

Les deux courbes de ces mêmes auteurs pour le lapin, infecté toujours par le *mal de Caderas,* montrent une hypoglycémie survenant après une augmentation du sucre au-dessus de la normale, au début de la maladie. Les animaux meurent en hypoglycémie (0,56 ‰ et 0,44 ‰), après une poussée nette d'hyperglycémie pour l'un d'eux, précédant de treize jours l'état hypoglycémique définitif qui se produisait à l'approche de la mort.

Ces deux dernières courbes ne sont pas plus amplement commentées par les auteurs. Les dosages du glucose (par la méthode d'Epstein) ont été faits : treize fois pendant les trente-huit jours de la maladie du premier et quinze fois pendant les trente-trois jours de la maladie du deuxième lapin. Les auteurs n'ont pas donné de détails concernant le rapport entre la glycémie et la température et le nombre des trypanosomes au cours de l'évolution du mal de Caderas.

A. Dubois et J.-P. Bouckaert (1927) se sont servis, pour doser le glucose du sang, de la méthode de Folin et Wu. Ils ont étudié six cobayes, quatre lapins et trois souris, chez lesquels ils ont fait en total vingt-deux dosages (sans aucune autre spécification pour chaque animal à part). Voici les chiffres donnés par les auteurs : « Chez le cobaye on constate, dès que l'infection a duré quelques jours, des chiffres anormalement bas de glucose du sang: 0,58 ‰ au septième jour de l'infection sanguine, vers 0,80 ou 0,70 après onze jours; à l'agonie, nous avons observé 0,31 et 0,23. Cette hypoglycémie est facilement coupée par un traitement stérilisateur (Trypanarsyl), etc. » (*Loc. cit.,* p. 431.)

« Chez le lapin, où l'infection sanguine est moins intense, il faut attendre l'agonie pour constater des hypoglycémies fortes (vers 0,20 ‰). » (*Loc. cit.,* p. 431.)

Ces auteurs concluent de ces expériences que « le fait par lui-même est donc parfaitement net : l'hypoglycémie se constate facilement au cours des infections sanguines intenses à trypanosomes

(1) Cité d'après Schern et Libero Rossi, *loc. cit.,* p. 396.

pour peu qu'elles aient duré quelque temps » (*loc. cit.*, p. 431).

Si nous avons bien saisi le sens de la note de Savino (1927), cet auteur admet aussi l'hypoglycémie au cours de l'infection du chien par le *Trypanosoma equiperdum*; mais « les valeurs de la glycémie au cours de l'infection ne restent point en rapport avec le nombre des trypanosomes du sang circulant » (*loc. cit.*, p. 221).

Fennyvessy (1926) admet également l'hypoglycémie comme caractéristique de la trypanosomiase. Sur une série de rats infectés avec *Trypanosoma equiperdum* (inoculation intrapéritonéale, maladie aiguë évoluant en quatre à cinq jours), il a constaté des chiffres très bas du glucose sanguin : 0 gr. 028 %, 0,030, 0,040, 0,077 (?), 0,015, 0 gr. 017 %, pour des densités des trypanosomes de 1 : 20, 1 : 15, 1 : 15, 1 : 14, 1 : 11, 1 : 10 (tryp.-hématies).

Cette hypoglycémie est avec certitude, d'après Fennyvessy, due à l'utilisation directe du glucose par les flagellés. Il appuie son affirmation sur deux expériences qui démontrent que:

a) *In vitro,* les trypanosomes consomment le sucre : en effet, dans une suspension de trypanosomes *(Tr. equiperdum)* dans du sérum physiologique alcalinisé et additionné de glucose (quelle concentration ?) et de tournesol, on obtient après une demi-heure à une heure le virage au rouge de l'indicateur ;

b) *In vivo,* l'abaissement du taux du glucose sanguin est encore dû à son utilisation par les trypanosomes et ne peut pas relever d'un phénomène réflexe provoqué par une trypanotoxine : en effet, cette dernière, inoculée à un rat neuf (en une seule injection), n'a aucun effet sur l'évolution de la glycémie ni après quatre heures, ni après vingt-deux, ou trois fois vingt-quatre heures.

En 1928, Scheff a soumis à une étude très serrée la dourine expérimentale chez le rat. En laissant pour le moment de côté les expériences et considérations fort intéressantes que le savant hongrois fait sur le métabolisme des albumines, des graisses, etc., etc., et en en retenant seulement celles concernant le métabolisme du glucose sanguin, il ressort que Scheff confirme aussi la théorie de Schern. Il admet, en effet, que chez les rats inoculés dans le péritoine avec *Trypanosoma equiperdum* (maladie aiguë, mort en quatre à cinq jours), on assiste à l'installation d'une hypoglycémie que l'auteur considère comme se développant parallèlement à l'augmentation du nombre des trypanosomes dans le sang. Il constate que l'hypoglycémie apparaît à partir de la valeur 1 : 20 entre trypanosomes-hématies. C'est ainsi que, chez quinze rats

présentant des densités variables de flagellés (1 : 35, 1 : 21, 1 : 18,9, 1 : 16,5, 1 : 15, 1 : 14,6, 1 : 14, 1 : 13, 1 : 12, 1 : 11, 1 : 8, 1 : 7,3 1 : 7, 1 : 5, 1 : 4,5), le sucre sanguin est à des concentrations souvent très réduites (resp. 0,092, 0,083, 0,080, 0,073, 0,068 — 0,073, 0,074, 0,049, 0,055, 0,046-0,047, 0,045, 0,022, 0,033, 0,027-0,027, 0,034, 0,034, 0,023, 0,020 %).

Le moment où l'hypoglycémie apparaît (« Wendepunkt » de l'auteur), autour du chiffre 1 : 20, a pour l'auteur une grande importance, puisqu'il précède à peu près de vingt heures la mort de l'animal.

A côté de ces expérimentateurs, Regendanz et Tropp (1928) prennent une position opposée. En travaillant sur les rats inoculés avec *Tryp. brucei, equinum equiperdum, rhodensiense, rhodensiense James, rhodensiense Eastwood, congolense,* ils arrivent à la conclusion que l'on ne peut pas parler d'une hypoglycémie progressive à la période d'état dans le sens de Schern. Les auteurs ne constatent qu'une chute brusque du taux du glucose sanguin à la fin la maladie, peu de temps avant la mort. Cette même diminution ne peut pas être causée par l'utilisation directe du sucre par les trypanosomes. D'autre part, à l'encontre de Schern, ils constatent qu'au moment de la mort, la réserve du foie en glycogène est encore assez élevée pour pouvoir compenser la perte du glucose éventuellement consommé par les trypanosomes. Enfin, ils sont d'avis que la mort dans la trypanosomiase serait due non pas à une intoxication glycoprivative, mais plutôt à l'action de la trypanotoxine sur le centre glyco-régulateur.

Dans une belle étude toute récente, Regendanz (1929) revient sur la même question et, entre autres, affirme encore un fois que, dans la trypanosomiase expérimentale, si l'on constate des troubles glycémiques, ces troubles n'arrivent jamais à se constituer en un état d'hypoglycémie progressive. Il constate encore une fois que le sucre diminue seulement à la fin de la maladie, peu de temps avant la mort, et que cette hypoglycémie finale serait due plutôt à l'action de la trypanotoxine.

*
**

En résumé, il y a actuellement deux courants d'opinion opposés concernant le métabolisme du sucre dans la trypanosomiase : d'un côté celui de Schern, Dubois et Bouckaert, Fennyvessy, Scheef, qui admettent l'existence d'une hypoglycémie progressive caractérisant toute la période d'état de la trypanosomiase et

causée par l'utilisation directe du sucre par les protozoaires (1); d'un autre côté, l'opinion de Regendanz, qui nie ce processus et n'admet qu'un abaissement brusque du glucose sanguin à l'approche de la mort, n'ayant pas de rapport avec l'utilisation de ce sucre avec les flagellés et étant plutôt l'expression de troubles du centre glycorégulateur provoqués par la trypanotoxine.

Des études suggérées par les problèmes soulevés par Schern, que nous avions commencées depuis longtemps, nous avaient conduit à des conclusions présentant certain intérêt au point de vue de la pathogénie de la trypanosomiase. Ces études étaient encore en cours quand nous avons pris connaissance de l'excellent travail de Regendanz, paru ce mois même (Regendanz, 1929) sur le même sujet. Comme nos recherches tendent, à certains points de vue, à des conclusions analogues, nous présentons ici, en manière d'étude préliminaire, quelques-unes de nos expériences sur la marche de la glycémie dans le Nagana chez le cobaye; elles pourraient présenter quelque intérêt dans le débat si intéressant soulevé par les considérations de Schern et l'attitude du savant hambourgeois.

Matériel et technique

Nos expériences ont été faites sur des cobayes neufs, provenant des élevages de l'Institut. La source de *Trypanosoma Brucei* que nous avons employée provient de l'Institut Pasteur de Paris (prof. F. Mesnil) et nous l'entretenons sur le cobaye et la souris depuis 1925.

Pour le dosage du glucose, nous avons employé la méthode de Bang, qui utilise des quantités minimales de sang et permet ainsi des dosages journaliers. Les prises de sang étaient faites toujours à jeun à 4 ou 5 heures de l'après-midi, c'est-à-dire huit heures après le dernier repas, qui avait lieu à 8 heures du matin (2). Le régime alimentaire des cobayes était normal, consistant en avoine et betteraves. Une fois le repas matinal terminé, à 8 heures,

(1) Dubois et Bouquaert admettent l'hypoglycémie à la période d'état, mais l'attribuent non à l'utilisation du glucose par les flagellés, mais aux lésions du foie.

(2) Il n'est pas tenu compte, dans cette série d'expériences, du minimum convenu de dix-huit à vingt-quatre heures de jeûne avant le dosage du glucose. Cependant, comme toutes ces expériences sont faites toujours dans les mêmes conditions, les résultats, bien que peut-être susceptibles d'objection, restent comparables. D'ailleurs, nous espérons répondre à cette objection dans une étude ultérieure.

les animaux ne recevaient plus aucune nourriture jusqu'à 16 ou 17 heures de l'après-midi; à ce moment, l'on faisait la prise de sang; après cette dernière, les animaux recevaient de nouveau la nourriture normale jusqu'au lendemain suivant.

Pour chaque animal expérimenté, on dosait d'abord le glucose sanguin pendant un ou plusieurs jours précédant l'inoculation. Après l'inoculation du virus, les dosages étaient faits chaque jour jusqu'à la mort (sauf dans l'expérience n° 1, où l'on a omis les dosages pendant deux jours).

En même temps que les dosages du glucose, on notait aussi les températures deux fois par jour. On comptait également chaque jour les trypanosomes du sang au compte-globules de Thomas-Zeiss. Au commencement de la maladie, quand ces derniers étaient très peu nombreux, on ne se servait pas du compte-globules.

Observations préliminaires

L'évolution clinique du Nagana chez le cobaye est assez capricieuse. La *durée de la maladie* est essentiellement inconstante : pour les cinq cobayes dont nous présentons ici les observations, la durée totale de la maladie, à partir du moment de l'inoculation jusqu'à la mort, a été respectivement de : 25, 27, 38, 19 et 51 jours.

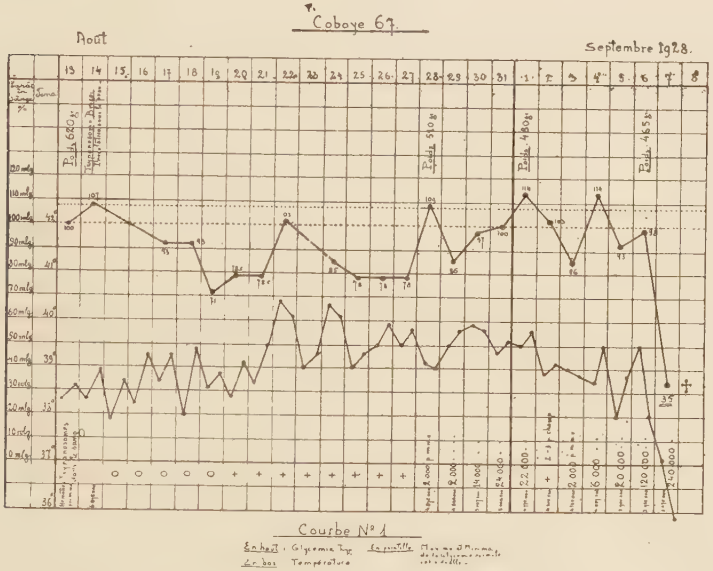
Les *variations numériques des trypanosomes* sont, elles aussi, plutôt capricieuses. Les *crises,* bien connues dans le Nagana expérimental, sont loin d'être toujours nettes et régulières. D'une manière générale, notre source de Nagana est très inconstante, tant au point de vue de l'évolution clinique qu'à celui de la densité des flagellés dans le sang. Pour ce qui concerne les crises trypanolytiques, il aurait été intéressant de pouvoir établir une corrélation éventuelle entre elles et la marche de la glycémie. Nous n'avons pas constaté, jusqu'à présent, une telle corrélation. Il est vrai aussi que ces crises ne présentent pas toujours un caractère net.

Expérience n° 1 (cobaye n° 67)

Cobaye normal, poids 620 grammes. Glycémie normale à jeun, le 13 et le 14 août 1928 : 100 et 107 milligrammes %. Le 14 août, après dosage du glucose, l'animal reçoit sous la peau un demi-centimètre cube de sang nagané, origine cobaye. Le 20 août, les trypanosomes apparaissent dans le sang, en très petit nombre. Ils se maintiennent à ce taux pendant huit jours, pour augmenter

brusquement, le 28 août, à 2000 individus par millimètre cube (compte-globules Thomas-Zeiss). Ce nombre augmente les jours suivants, jusqu'à 22.000 le 1er septembre. Courte crise le 2 septembre (deux à trois trypanosomes par champ). A partir du 3 septembre (2000 individus par millimètre cube), nouvelle augmentation progressive jusqu'à 240.000 individus par millimètre cube (le 7 septembre). L'animal meurt pendant la nuit.

Les dosages du glucose ont été faits chaque jour à jeun (sauf le 15 et le 16 août pendant l'incubation, et encore le 23 août,



après l'apparition des trypanosomes dans le sang). Les variations numériques sont consignées dans la *courbe n° 1*. De cette courbe, on pourrait tirer les conclusions suivantes :

Pendant la période d'incubation, il y a une tendance à l'hypoglycémie jusqu'à 71 milligrammes %.

Au moment de l'*apparition des trypanosomes* dans le sang, une montée vers la normale, suivie d'une phase vaguement hypoglycémique durant tous les jours où les trypanosomes restent peu nombreux dans le sang.

Pendant la première partie de la *période d'état,* où les trypanosomes varient entre 2000-22.000 individus par millimètre cube,

il y a une tendance au rétablissement de l'équilibre du glucose sanguin, avec de légers sauts au-dessus et au dessous de la normale.

L'agonie de l'animal coïncide avec une chute brusque du glucose à 35 milligrammes %. Les trypanosomes sont, à ce moment, au nombre de 240.000 par millimètre cube.

Le poids de l'animal a diminué progressivement de 620 grammes à 510, 480 et 465 grammes aux derniers jours. Le nombre des hématies est tombé de 6.875.000 à 3.675.000 par millimètre cube.

En résumé, on doit admettre une légère hypoglycémie caractérisant la période d'incubation et les huit jours du début de la maladie avec un peu de trypanosomes dans le sang; et une tendance — avortée — au rétablissement de l'équilibre pendant le reste de l'évolution. Chute catastrophique du glucose à la période d'agonie. Pas de concordance entre les valeurs de la glycémie et la crise du 2 septembre.

Expérience n° 2 (cobaye n° 11)

Cobaye, poids 920 grammes. Glycémie normale à jeun : 93 et 96 milligrammes %. Le 8 septembre 1928, après dosage du glucose sanguin, l'animal reçoit sous la peau environ un demi-centimètre cube de sang nagané origine cobaye. Les trypanosomes apparaissent dans le sang le 12 septembre 1928 : ils sont en très petit nombre, un, deux, trois par champ microscopique, et se maintiennent à ce chiffre bas pendant treize jours (du 12 au 24 septembre 1928). Le 25 septembre, les flagellés augmentent brusquement dans le sang, avec 2000 individus par millimètres cube, et leur nombre s'accroît sans cesse pendant les dix derniers jours de la maladie ; le dernier jour précédant la mort, on compte 276.000 trypanosomes par millimètre cube (compte-globules Thomas-Zeiss). Pas de crise. La maladie a duré en tout vingt-sept jours.

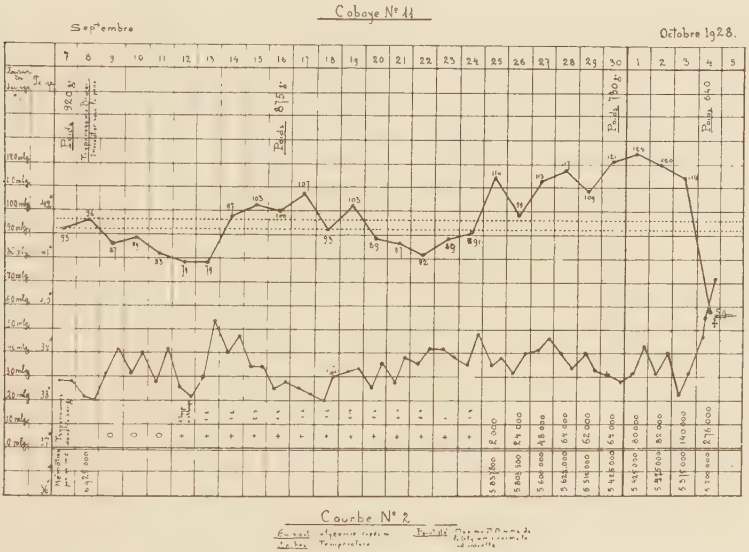
Le dosage du glucose sanguin a été fait chaque jour à 4 ou 5 heures de l'après-midi, l'animal étant à jeun. D'après la *courbe n° 2*, les valeurs de la glycémie ont subi les variations suivantes :

Période d'incubation : tendance à une très faible hypoglycémie (?) (87-89 mgr. %).

A l'apparition des trypanosomes dans le sang, l'hypoglycémie persiste. Pendant tout le temps où les trypanosomes restent peu

nombreux dans le sang, on constate : un processus hypoglycémique au début, suivi d'une poussée hyperglycémique de quatre jours. A la fin de cette même période (20-24 septembre 1928), une nouvelle tendance à l'hypoglycémie qui tend à remonter les deux derniers jours.

Pendant *la phase caractérisée par le grand nombre des trypanosomes* dans le sang, on constate, au contraire, une forte réaction se traduisant par un saut assez accentué des valeurs glycémiques, qui se maintiennent tout le temps au-dessus de la normale jusqu'au jour précédant la mort.



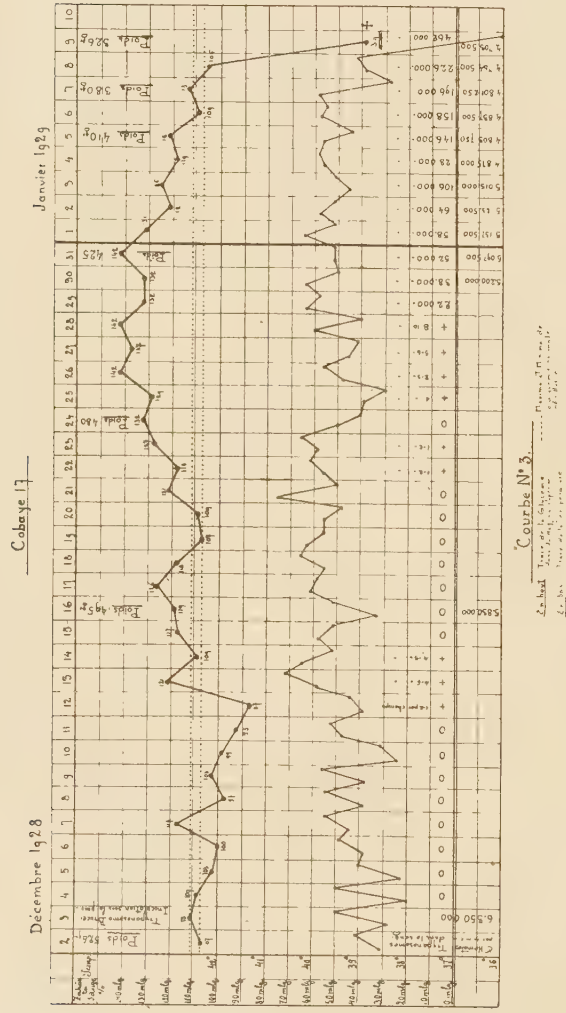
L'agonie est caractérisée par une chute catastrophique du glucose à 59 milligrammes %. *Courbe n° 2.*

Le poids de l'animal est tombé progressivement de 920 grammes à 875, 730 et 640 au moment de l'agonie. Le nombre des hématies est tombé de 6.925.000 au début de l'expérience à 5.200.000 le jour de la mort.

En résumé, il semble qu'on ait affaire, ici encore, avec une tendance à l'hypoglycémie pendant la période de l'incubation; puis surviennent des variations hypo et hyperglycémiques pendant la première phase, une hyperglycémie pendant la deuxième, ainsi qu'une chute brusque au moment de la mort.

Expérience n° 3 (cobaye n° 17)

Cobaye, poids 526 grammes. Glycémie normale à jeun : 107 et 111 milligrammes %. Le 3 décembre 1928, après dosage du glucose sanguin, l'animal reçoit sous la peau environ un demi-centimètre cube de sang nagané origine cobaye



Les trypanosomes apparaissent dans le sang le 12 décembre 1928. Pendant dix-sept jours (12-28 décembre), ils se maintiennent à un taux très réduit (un à cinq individus par millimètre cube). Pendant sept jours, les protozoaires sont même absents (crise ?).

Brusque augmentation du nombre le 29 décembre, où l'on compte 22.000 individus par millimètre cube (appareil Thomas-Zeiss). A partir de cette date, les trypanosomes augmentent régulièrement en nombre ; ils atteignent 462.000 individus par millimètre cube le 9 janvier 1929, dernier jour de la maladie. L'animal meurt dans la soirée.

Les dosages du glucose sanguin ont été faits régulièrement chaque jour, pendant la durée de la maladie.

D'après la *courbe n° 3,* on pourrait tirer les conclusions suivantes :

Pendant la période d'incubation, le taux du glucose sanguin diminue graduellement jusqu'à 93 milligrammes % (un saut de 117 milligrammes % le 7 décembre semble plutôt accidentel [quantité plus grande de nourriture?]).

A l'apparition des trypanosomes dans le sang, et pendant la longue période caractérisée par le nombre toujours très réduit et même nul des flagellés dans la circulation générale, on constate que la glycémie, qui continuait à baisser le premier jour (12 décembre), s'élève brusquement à une valeur de 121 milligrammes (10 milligrammes au-dessus de la normale individuelle); elle se maintient pendant toute cette période au-dessus de la normale, mais avec des oscillations qui ne dépassent pas sensiblement cette dernière. De plus, on observe une tendance nette à l'augmentation progressive de cette glycémie (jusqu'à 142 milligrammes %) au dernier jour de cette période.

Pendant la deuxième phase de la maladie, où les trypanosomes s'accumulent dans le sang en nombre de plus en plus considérable, le taux du glucose sanguin reste toujours au-dessus de la normale. Descente insensible (105 milligrammes) à l'avant-dernier jour de la maladie.

A l'agonie, descente brusque du glucose sanguin à 39 milligrammes %. L'animal meurt dans la nuit.

Le poids de l'animal tombe progressivement de 526 grammes à 485, 480, 425, 410, 380 et 325 au dernier jour.

En résumé, de même que dans les expériences précédentes, on constate ici une tendance vers l'hypoglycémie pendant la période d'incubation. L'invasion des trypanosomes dans le sang coïncide avec une longue période hyperglycémique. La même hyperglycémie se continue pendant la deuxième phase de la maladie. L'agonie coïncide avec une chute catastrophique du glucose à 39 milligrammes %.

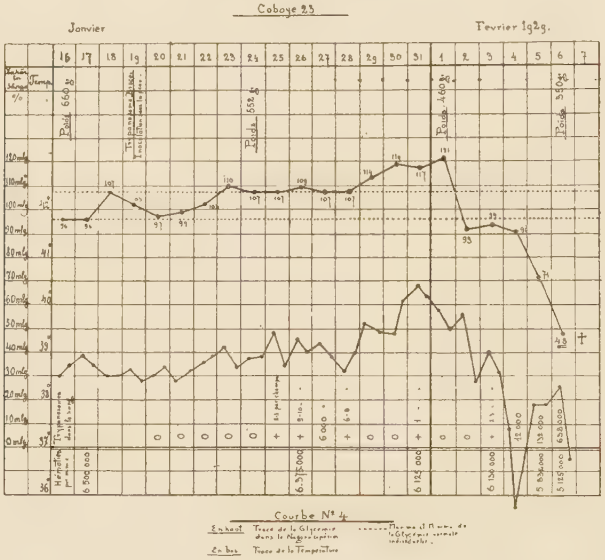
Expérience n° 4 (cobaye n° 23)

Le cobaye n° 23, poids 660 grammes. Glycémie normale à jeun : 96, 96, 107 et 103 milligrammes %.

Le 19 janvier 1929, après dosage du glucose sanguin, l'animal reçoit sous la peau environ un demi-centimètre cube de sang nagané origine cobaye. Les trypanosomes apparaissent dans le sang le 25 janvier, en petit nombre pendant les premiers deux

jours (deux ou trois, neuf ou dix par champ). Brusque augmentation à 6.000 individus par millimètre cube (Thomas-Zeiss) le 27 janvier. A partir du lendemain, les trypanosomes disparaissent du sang, ou presque. Les derniers jours, 4, 5 et 6 février, augmentation brusque des trypanosomes jusqu'à 638.000 individus par millimètre cube.

Les dosages du glucose sanguin montrent que le sucre s'est maintenu tout le temps au moins dans les limites normales. Aucune tendance à l'hypoglycémie. Dans la première moitié de la période finale, tendance à l'hyperglycémie, suivie d'une légère descente les trois jours suivants (jusqu'à 71 milligrammes %).



A l'agonie, descente brusque du glucose à 48 milligrammes %. L'animal meurt pendant la nuit. *Courbe n° 4.*

Le poids est successivement tombé de 660 grammes au début, à 552, 460 et 350 grammes au dernier jour de la maladie. Les globules rouges tombent de 6.500.000 à 5.120.000 le dernier jour.

La maladie a eu un caractère particulièrement aigu.

Expérience n° 5 (cobaye n° 24)

Le cobaye n° 24, poids 630 grammes. Glycémie normale pendant quatre jours avant l'inoculation : 109, 112, 107 et 109 milligrammes %.

Le 19 janvier, l'animal reçoit sous la peau environ un demi-centimètre cube de sang nagané origine cobaye. Quatre jours après, le 23 janvier, les trypanosomes apparaissent dans le sang et se maintiennent en petit nombre (un, trois, huit, neuf individus par champ) pendant trois jours. Brusque augmentation le 26 janvier, avec 6.000 individus par millimètre cube (Thomas-Zeiss).

A partir du jour suivant, une très longue période (vingt-trois jours) où les trypanosomes se maintiennent à des chiffres excessivement bas : un, deux, trois individus par champ microscopique. Au cours de ces vingt-trois jours, à trois moments différents, absence totale des flagellés dans le sang (crises ?).

Dans la seconde phase de la maladie, les trypanosomes augmentent brusquement dans le sang le 26 janvier, où l'on compte 14.000 individus par millimètre cube. A partir de ce jour, les trypanosomes varient entre 14.000, 22.000, 42.000, 60.000 individus par millimètre cube, sans jamais remonter plus haut, comme c'est le cas ordinaire pour l'évolution normale de la maladie. En plus, pendant cette période, deux crises apparaissent : une première, fugitive, le 4 mars, et une seconde, plus longue, à la fin de la maladie.

L'animal meurt en pleine crise, dans la nuit de 10 au 11 mars 1929. *Courbe n° 5.*

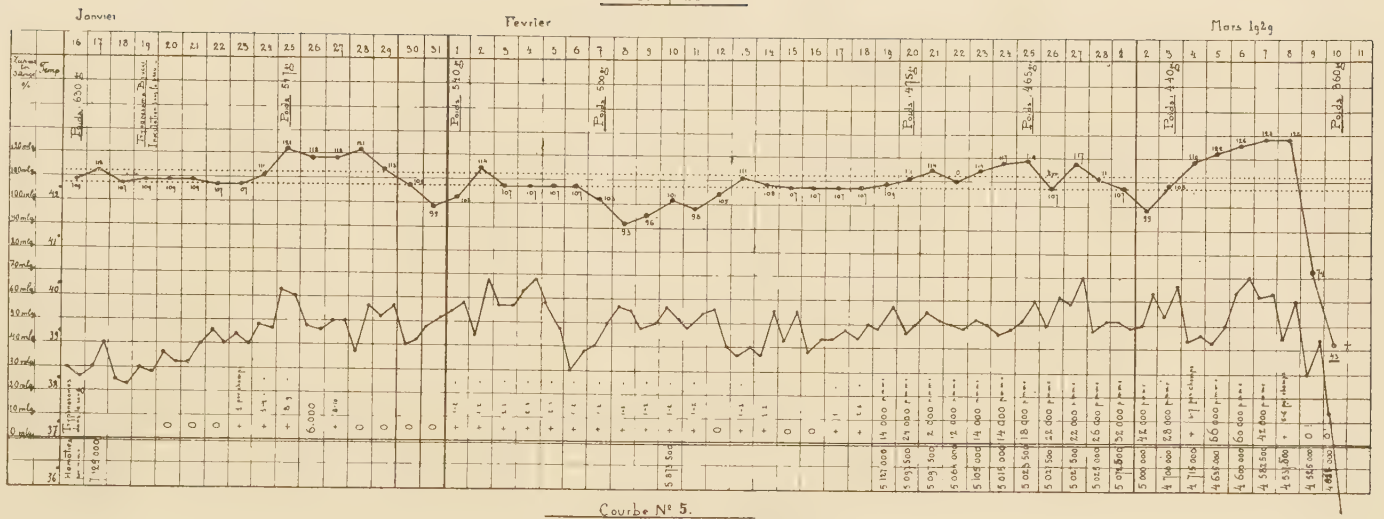
A ce moment, le poids est tombé successivement de 630 grammes au début à 547, 540, 500, 475, 465, 440 et 360 grammes. Les globules rouges tombent de 7.125.000 à 4.035.000 par millimètre cube.

La maladie de ce cobaye a présenté un caractère essentiellement chronique ; elle est caractérisée par une très longue durée (cinquante et un jours), une longue période avec peu de protozoaires dans le sang (vingt-sept jours) et une période finale où les protozoaires se sont maintenus à des chiffres relativement bas par rapport avec la même phase de tous les cas de Nagana expérimental. On doit remarquer que l'animal meurt en crise.

Le glucose sanguin a été dosé régulièrement chaque jour pendant toute la durée de l'expérience. D'après la courbe n° 5, on voit que les variations de la glycémie ne présentent que d'insignifiantes oscillations autour de la normale individuelle.

Pendant l'incubation et à l'apparition des trypanosomes dans le sang, le sucre reste immobile. Pendant la longue période où les flagellés sont très peu nombreux, il y a de légères poussées au-dessus et au-dessous de la normale, sans écart trop larges. La seconde phase, avec de nombreux trypanosomes, le sucre continue à se

Cobaye 24



Courbe N° 5.

En haut : Tracé de la Glycémie avec la Moyenne réglementaire ..... Moyenne et Normale de la Glycémie normale des Poules.

En bas : Tracé de la Température

maintenir à la normale; légère poussée hyperglycémique finale.

L'agonie est, comme toujours, caractérisée par une chute brusque du glucose sanguin à 43 milligrammes %.

Ce qui constitue l'intérêt des deux dernières expériences est précisément le fait que les cobayes 23 et 24 diffèrent totalement au point de vue de l'évolution de la maladie. Alors que le premier fait une maladie très grave, à évolution très rapide, et meurt avec un nombre considérable de trypanosomes dans le sang (638.000 par millimètre cube), le second fait, au contraire, une maladie chronique d'une durée de cinquante et un jours, avec — pendant la seconde période — des trypanosomes relativement peu nombreux (tout au plus 50.000 individus par millimètre cube). La maladie, dans ce dernier cas, est plutôt bénigne et l'*animal meurt en crise trypanolytique*. Et cependant les deux cobayes neufs ont été inoculés le même jour, à la même heure et avec la même quantité de sang virulent, de provenance unique; de plus, leur poids est sensiblement le même (660 et 630 grammes). Dans les deux cas, le glucose ne présente, au cours de la maladie, que des oscillations insignifiantes.

Discussion des faits

A. — Les données de toutes ces expériences sont loin de se superposer. D'abord la marche de la maladie diffère fortement d'une expérience à l'autre. Tantôt cette maladie évolue plus lentement, tantôt, au contraire, elle prend une allure chronique avec cachexie lente de l'animal. La période d'incubation, ainsi que les deux phases de la période d'état, diffèrent notablement d'un animal à l'autre. Le nombre des trypanosomes augmente, il est vrai, régulièrement — après une période variable où ils se maintiennent à un chiffre assez bas — dans tous les cas. Mais, la densité générale ou moyenne est visiblement variable d'un cas à l'autre. Il semble surtout que, dans la maladie chronique, les trypanosomes se maintiennent tout le temps à une densité plutôt médiocre. Enfin les crises sont franchement irrégulières, souvent non décelables.

Nous ne trouvons pas d'explication permettant d'interpréter ces différences. Il est vrai que nos expériences présentent une lacune sérieuse en ce qui concerne le nombre des trypanosomes (origine cobaye) inoculés dans chaque cas. Nous avons toujours injecté approximativement la même quantité de sang nagané (environ un

demi-centimètre cube); mais, bien que le sang eût été constamment récolté sur des cobayes ayant toujours de « très nombreux trypanosomes dans le sang », ces derniers n'ont jamais été comptés de façon à pouvoir inoculer approximativement la même quantité de germes dans tous les cas. On sait, d'autre part, le rôle important que le nombre de germes inoculés présente sur la durée de l'incubation et peut-être aussi sur l'évolution de la maladie expérimentale. Dans les expériences que nous poursuivons en ce moment, nous nous efforçons de combler cette lacune. Cette objection ne semble pourtant pas avoir toujours une valeur absolue ; car, ainsi qu'on l'a vu dans les expériences 4 et 5, bien que le nombre de germes inoculés aux deux cobayes du même poids doive être considéré comme sensiblement le même, les animaux ont fait pourtant deux maladies tout à fait différentes.

B. — Si l'on considère la marche de la glycémie dans les cas expérimentés, on constate des variations assez irrégulières.

D'abord, il ne semble pas y avoir d'hypoglycémie dans le sens suggéré par Schern. Si l'hypothèse de Schern était vraie, on devrait assister, en effet, au moins dans la seconde phase de la maladie, à une diminution progressive du glucose sanguin, parallèlement à l'évolution clinique et au nombre de plus en plus croissant des trypanosomes circulants. Or, en faisant abstraction de la chute brusque du taux du glucose au moment de l'agonie, cet abaissement progressif n'est constaté dans aucun des cas expérimentés. Au contraire, il semble que l'on ait plutôt affaire à une tendance à l'hyperglycémie pendant cette période, comme d'ailleurs dans beaucoup de maladies microbiennes. D'autre part, en ce qui concerne la durée de la maladie expérimentale, on a l'impression d'assister à des variations irrégulières du glucose sanguin, tantôt au-dessus, tantôt au-dessous de la normale, et cela sans aucune règle précise.

1° Si nous étudions les variations de la glycémie chez des cobayes trypanosomés chez lesquels on avait préalablement déterminé les variations du sucre à l'état normal avant toute inoculation, l'on constate que cette inoculation est généralement suivie d'une légère baisse du taux du sucre sanguin, qui se relève assez rapidement pour osciller pendant un certain temps entre les limites normales. Cette seconde phase est suivie d'un accroissement assez sensible dans le teneur du sang en glucose, hyperglycémie qui précède la chute catastrophique de la période agonique.

2° Notons cependant que, même à l'état normal, les limites extrêmes de la glycémie présentent des oscillations considérables

lorsque l'observation porte sur un grand nombre de cobayes.

Voici quelques chiffres qui illustrent l'affirmation précédente :

Cobaye n°	32	114-108	mgr. %
—	24	107-112	—
—	92	107-111	—
—	17	107-111	—
—	94	107-121	—
—	67	100-107	—
—	11	93-96	—
—	23	96-107	—
—	57	90-79	—
—	37	86-96	—
—	84	78-93	—

On voit, à l'examen du tableau précédent, que les variations du glucose constatées chez les cobayes trypanosomés ne dépassent guère les minima et les maxima des variations qu'un cobaye peut présenter à l'état physiologique.

Si bien qu'il semble résulter que les troubles assez légers du métabolisme du glucose chez les cobayes naganés ne semblent pas évoluer parallèlement à l'évolution de la maladie elle-même, et qu'il n'y a aucune raison pour admettre une hypoglycémie s'accentuant avec l'augmentation du nombre des trypanosomes dans le sang.

Nous insistons, si l'on veut arriver à la constatation que nous venons d'énoncer, sur la nécessité qu'il y a à doser la teneur du sang en glucose non pas d'une façon discontinue, mais chaque jour et pendant tout le cours de la maladie expérimentale chez un seul et même animal.

Hypoglycémie finale et agonique

Si le métabolisme du sucre sanguin est soumis à des oscillations plutôt irrégulières pendant la période d'état de la trypanosomiase, il n'en est pas de même de la valeur de la glycémie aux derniers moments : au dernier jour ou aux dernières heures de la maladie. A ce moment, on constate toujours une chute brusque du taux du glucose sanguin à des chiffres excessivement bas. Les cinq cobayes naganés nous ont, en effet, donné des valeurs très réduites au dernier jour de la maladie, quelques heures avant la mort : 0 gr. 035, 0,059, 0,039, 0,048 et 0,043 %. L'hypoglycémie finale est, par conséquent, un phénomène constant dans nos expériences.

Cette hypoglycémie finale apparaît, avec la même constance,

dans toutes les expériences des divers auteurs ayant travaillé avec des espèces très diverses de trypanosomes sur des animaux très variés. Dubois et Bouquaert constatent 0 gr. 031 et 0 gr. 023 % de glucose sanguin chez deux cobayes inoculés avec *Trypanosoma brucei ugandae,* à l'agonie. Ces mêmes auteurs constatent encore 0 gr. 020 % chez le lapin, également à l'agonie; ils font même remarquer que, chez cet animal, on ne constate d'hypoglycémie qu'à la période finale. Schern constate aussi, à diverses reprises, la même hypoglycémie terminale.

Fennyvessy, Scheef (1928) arrivent à la même conclusion en travaillant sur des rats dourinés. Ce dernier affirme même que l'on peut prévoir, avec approximation de trois à quatre heures, la mort de l'animal, une fois l'hypoglycémie apparue. Enfin Regendanz et Tropp, puis Regendanz, se prononcent nettement pour l'hypoglycémie finale dans la trypanosomiase.

Dans son excellent travail de 1929, ce dernier savant insiste spécialement sur l'existence de cette hypoglycémie finale.

On peut donc affirmer en toute assurance que l'abaissement considérable du taux du glucose sanguin au moment de l'agonie est un phénomène constant dans la trypanosomiase.

Cette hypoglycémie s'installe d'une manière tout à fait brusque, sans être annoncée d'avance par des abaissements progressifs — si insignifiants qu'ils soient — les jours précédant la mort. Elle prend un caractère catastrophique par l'abaissement brutal du chiffre auquel elle atteint. Elle évoque l'idée d'un phénomène de choc.

Dans nos expériences, ce n'est que cette hypoglycémie agonique que l'on peut nettement mettre en évidence au cours du Nagana expérimental chez le cobaye; elle ne nous semble pas confirmer la conception de Schern sur la trypanosomiase comme maladie de carence du sucre.

Nous croyons, en effet, que l'hypothèse de Schern n'aurait de raison d'être que dans le cas où l'on constaterait une tendance — au moins dans les limites compatibles avec la vie — d'un abaissement constant du sucre sanguin pendant la période d'état de la trypanosomiase et en rapport direct avec l'augmentation du nombre des protozoaires dans le sang. Ce n'est que sous cette forme que l'on pourrait concevoir le métabolisme du sucre dans la trypanosomiase dans le sens de Schern, de Fennyvessy, Scheef, etc., c'est-à-dire comme substance directement utilisée par les flagellés et, par conséquent, fatalement diminuée quantitativement au fur et à mesure que ces derniers se multiplient

dans le sang, en même temps que la fonction hépatique se déprime.

Or, cette hypoglycémie progressive n'apparaît, en pleine période d'état, ni dans nos expériences propres, ni, croyons-nous, dans les expériences des divers expérimentateurs ayant poursuivi le même sujet. Il est vrai que, au premier abord, en comparant les valeurs glycémiques constatées par Fennyvessy, Scheef, Dubois et Bouquaert, entre autres, on serait tenté d'admettre que le sucre diminue, en effet, d'une manière progressive au cours de l'évolution de la maladie, parce que les valeurs glycémiques sont d'autant moindres qu'elles sont prises sur des cobayes hébergeant des populations de plus en plus denses de trypanosomes. Mais, en analysant de plus près les chiffres donnés par les auteurs, on doit — croyons-nous — les interpréter de tout autre façon.

En effet, Fennyvessy (1926), par exemple, met en parallèle les résultats de quatre dosages du glucose faits sur quatre rats normaux, différents, avec les glycémies constatées chez quatre rats trypanosomés.

Gesunde Tiere	*Blutzucker-Proz.* Mittel aus 5 bis 6 Bestimmungen.	*Injizierte Tiere.*	*Blutzucker-Proz.*
N° 1	0,153	N° 1 (Tryp. 1 : 14)	0,077
N° 2	0,147	N° 2 (Tryp. 1 : 20)	0,113
N° 3	0,175	N° 3 (Tryp. 1 : 9)	(?)
N° 4	0,134	N° 4 (Tryp. 1 : 15)	0,040

Plus bas, encore, il donne encore les chiffres suivants :

Ratte n° 22 :
normal ..... 0,13, proz. Blutzucker
Injiziert ..... 0,03 — — (tryp. 1 : 15)

Ratte n° 23 :
normal ..... 0,12 proz. Blutzucker
Injiziert ..... 0,15 — — (tryp. 1 : 11

(Fennyvessy, 1926, p. 294.)

L'auteur a fait en réalité, pour chaque rat, deux dosages : l'un avant l'inoculation et l'autre après celle-ci. Souvent, ces deux dosages n'ont même pas été faits sur le même animal, alors par exemple que la ponction caudale étant insuffisante, il se croyait obligé de pratiquer la ponction du cœur, qui, d'après lui, ne pourrait pas être répétée. On voit par là que, à chacune de ses expériences, l'auteur s'est placé dans des conditions différentes, d'où la difficulté de comparer ces expériences entre elles.

Si l'on étudie les chiffres obtenus par Fennyvessy, on voit que

les glycémies constatées par lui sont en rapport avec un minimum de densité des trypanosomes : 1 : 30, puis de 1 :15, 1 : 15, 1 : 14, 1 : 11, et 1 : 9. Pour la densité 1 : 30, le sucre est normal : 0,113. Pour la densité 1 : 15, 1 : 9, le sucre diminue, il est vrai, mais déjà le rapport 1 : 15 (et même 1 : 20) est caractéristique, croyons-nous, de la période préagonique. Dans ces conditions, tous les pourcentages constatés par l'auteur (0,030, 0,040, 0,077, 0,015 et 0 [?]) ne représentent, en réalité, selon nous, que des hypoglycémies préagoniques et nullement des hypoglycémies de la période d'état de la dourine du rat.

Dans les belles recherches de Scheef, nous constatons pour ce qui concerne la glycémie, les mêmes défauts de méthode. Au lieu de comparer de jour en jour les valeurs du glucose au cours de la maladie chez un seul et même rat douriné, il fait, lui aussi, des dosages isolés sur plusieurs (quinze individus, à des moments où ils présentaient des quantités différentes de trypanosomes dans le sang. Dans ces conditions, lui aussi a constaté que, en réalité, le sucre diminue à partir du rapport 1 : 20. Or, ce rapport précède précisément de quelque vingt heures la mort. D'ailleurs, Scheef insiste lui-même sur ce fait, en affirmant (ce qui est très vrai) que l'apparition de l'hypoglycémie marque la fin de l'animal dans les quinze ou vingt heures qui suivent. C'est donc toujours une hypoglycémie brusque et précédant de peu la mort qui est constatée aussi par Scheef. Avant ce moment, il constate que le sucre sanguin est resté toujours au chiffre normal. (« ... Vor diesem Wendepunkt, fand ich den Blutzucker mit Ausname eines einzigen Falles normal », *loc. cit.*, p. 313.)

*
**

En résumé, nous pensons que, tout au moins dans les cas étudiés par nous, ainsi que dans ceux de Schern, Dubois-Bouquaert, Fennyvessy, Scheef, on n'a guère de raisons valables pour interpréter la trypanosomiase comme une maladie de carence du sucre. Le glucose n'est pas consommé par les trypanosomes au point de provoquer un abaissement visible de celui-ci. Le fait de l'hypoglycémie à la période d'état n'est démontré ni dans nos expériences, ni, croyons-nous, dans les expériences des auteurs précédents.

D'autre part, les faibles variations glycémiques, inconstantes et imprécises (comme on le voit d'après nos expériences) qui

apparaissent au cours de la période d'état pourraient être dues aux troubles du centre glycorégulateur, dont le déséquilibre fonctionnel se traduirait par un déséquilibre correspondant dans le métabolisme du sucre, déséquilibre n'arrivant jamais jusqu'à l'installation d'une hypoglycémie constante et progressive.

Il semble bien, donc, que ce que les auteurs précédents ont pris pour une hypoglycémie d'état est en réalité une hypoglycémie agonique. Parmi les travaux analysés, il n'y a que celui de Regendanz et Tropp (1928) et de Regendanz (1929) qui, tout en constatant des troubles glycémiques au cours de la période d'état, nient cependant l'existence d'une hypoglycémie progressive pendant l'évolution de la trypanosomiase et mettent en relief, au contraire, la chute brusque du taux du sucre sanguin à la période finale de la maladie peu de temps avant la mort.

Nos expériences conduisent au même résultat, et nous croyons comme démontrée l'apparition, de manière tout à fait brusque, d'une *hypoglycémie préagonique, seul phénomène caractéristique et constant dans la trypanosomiase.*

⁂

A. — Nous n'aborderons pas pour le moment l'explication du mécanisme de l'hypoglycémie préagonique. Pour Fennyvessy, Scheef, qui admettent l'hypoglycémie à la période d'état (bien qu'en réalité il s'agisse là d'une hypoglycémie préagonique), cette diminution du sucre sanguin serait due à l'utilisation directe de celui-ci par les protozoaires. Cette thèse ne peut guère être soutenue, car, comme on l'a vu, on devrait constater, en ce cas, une diminution du sucre en proportion directe avec l'augmentation progressive des trypanosomes sanguins pendant l'évolution de la maladie; or, tant dans les expériences de Regendanz que dans les nôtres, cette hypoglycémie d'état n'apparaît pas du tout.

D'autre part, on ne pourrait admettre davantage l'hypothèse d'une consommation brusque du sucre précisément dans les dernières vingt ou vingt-quatre heures de la maladie, car, même avant cette période, les trypanosomes sont déjà assez nombreux dans le sang pour provoquer une chute progressive du sucre avant la période préagonique.

Les deux expériences de Fennyvessy (1926, p. 295), tendant à démontrer que la diminution du sucre est due effectivement à l'assimilation de ce dernier par les trypanosomes et non à une

inhibition du centre glycorégulateur de la part d'une trypanotoxine, ne nous semblent pas démonstratives. (Nous devons ajouter que des expériences encore en cours dans notre laboratoire, et que nous relaterons dans un prochain article, semblent révéler cependant une certaine action des extraits de trypanosomes sur le centre glycorégulateur.)

L'autre expérience de Fennyvessy (1926, p. 289), démontrant le virage du tournesol par une suspension de trypanosomes dans une solution alcaline glucosée de NaCl, ne nous semble pas démontrer davantage de manière tout à fait certaine que l'acide éventuellement apparu dans la suspension soit dû nécessairement au dédoublement du glucose, que l'auteur d'ailleurs n'a pas dosé à la fin de l'expérience.

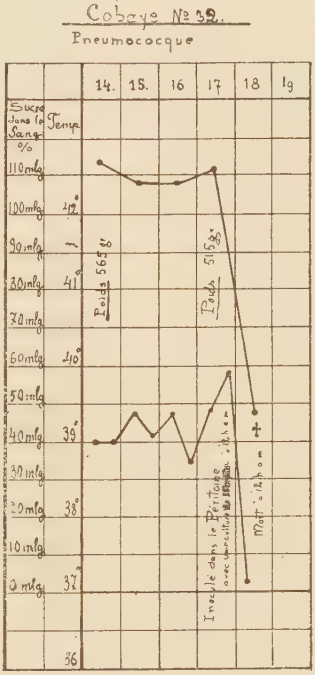
B. — En nous limitant à l'hypoglycémie agonique proprement dite, nous avons vu que Regendanz essaie de l'expliquer par l'action inhibitrice de la trypanotoxine sur le centre glycorégulateur. L'hypothèse de Regendanz est très plausible. La manière tout à fait brusque dont le taux du glucose sanguin tombe à l'approche de l'agonie plaide bien pour un mécanisme nerveux. Les troubles irréguliers du métabolisme du sucre pendant la période d'état pourraient bien, eux aussi, parler en faveur de troubles du centre glycorégulateur d'origine toxique. La question doit être encore étudiée. On devrait, aussi, étudier les lésions des capsules surrénales.

Nous croyons que l'hypoglycémie agonique — due ou non à la trypanotoxine — n'est pas un phénomène spécifique de la trypanosomiase. Nous croyons plutôt que c'est un processus d'ordre plus général, commun probablement à beaucoup de maladies infectieuses et en liaison directe avec le mécanisme de l'agonie et de la mort en général.

Envisagée à ce point de vue, l'hypoglycémie finale ne semble pas avoir été étudiée d'assez près dans les maladies infectieuses. Il existe, pourtant, à ce point de vue, certaines indications intéressantes. C'est ainsi que Roger (1928, p. 134), en inoculant des cultures de streptocoque au lapin, a constaté, au moment de l'apparition des phénomènes graves, l'apparition d'une hypoglycémie finale. Niculicescu (1927) a observé la même hypoglycémie précédant de quelques heures la mort dans la scarlatine hypertoxique chez un adulte. La maladie, dans ce cas, a évolué en cinq jours. A son entrée à l'hôpital, le malade présentait 198 milligrammes % de glucose sanguin. Cinq jours après, on constate une chute considérable du sucre, à 38 milligrammes % (la mort

suivit au cours de la nuit, avec phénomènes de suffocation par œdème de la glotte). C'est donc une hypoglycémie considérable, présentant le même caractère de soudaineté et de liaison très intime avec la mort survenant en quelques heures.

Nous avons également poursuivi la marche de la glycémie dans certaines maladies infectieuses chez les animaux de laboratoire. Nous donnons ici, à titre de document, deux de nos observations faites sur le cobaye infecté avec le pneumocoque.



Courbe N° 6.
En haut : Tracé de la Glycémie
En bas : Tracé de la Température

Observation I

Cobaye n° 32. — Poids, 565 grammes. Glycémie normale, à jeun les 14, 15, 16 et 17 mars 1929 : 114, 109, et 111 milligrammes %.

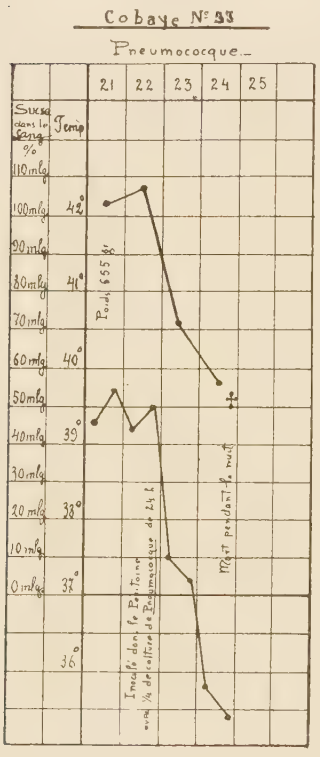
Le 17 mars, après la prise de sang, l'animal reçoit dans le péritoine une culture entière de vingt-quatre heures de pneumocoque sur gélose-ascite. Le lendemain, 18 mars, l'état du cobaye est très grave. Glycémie à jeun : 48 milligrammes %. Mort trente minutes après la piqûre de l'oreille. *Courbe n° 6.*

Observation II

Chez un autre cobaye, nous provoquons une maladie plus longue par une dose moins forte de pneumocoques.

Cobaye n° 33. — Poids, 555 grammes. Glycémie normale à jeun les 21 et 22 mars : 103 et 107 milligrammes %. Le 22 mars, après la prise de sang, l'animal reçoit dans le péritoine un quart de culture de pneumocoque de vingt-quatre heures sur gélose-ascite. La maladie évolue en cinquante-quatre heures. Glycémie à jeun

le dernier jour de la maladie (24 mars), huit heures avant la mort : 57 milligrammes %. *Courbe n° 7.*



Courbe N° 7

Il résulte de ces deux expériences, ainsi que de celles citées plus haut, que la chute catastrophique du sucre sanguin peut être un phénomène ayant un caractère de généralité et qui apparaît au cours de la courte période préagonique et pendant l'agonie.

Résumé et conclusions

1. — Dans le Nagana expérimental chez le cobaye, on ne constate pas d'hypoglycémie progressive ni proportionnelle au nombre croissant des tryponosomes dans le sang.

2. — On constate tout au plus des troubles irréguliers de la glycémie au-dessous et au-dessus de la normale, exprimant plutôt un déséquilibre du centre glycorégulateur, mais en aucun cas l'utilisation directe du glucose sanguin par les trypanosomes.

3. — Au contraire, le phénomène constant dans l'évolution de la trypanosomiase est l'hypoglycémie préagonique et agonique.

4. — Cette dernière s'installe de manière tout à fait brusque sans être annoncée par une diminution progressive du taux du glucose pendant la période d'état. Bien plus, elle est précédée le plus souvent par une phase d'hyperglycémie.

5. — L'hypoglycémie finale relève peut-être d'un mécanisme nerveux déclanché par l'action de la trypanotoxine directement sur le centre glycorégulateur ou par l'intermédiaire des capsules surrénales.

6. — D'ailleurs, l'hypoglycémie finale ne semble pas être spécifique de la trypanosomiase. Elle serait plutôt un cas particulier d'un processus biologique plus général, caractérisant la période agonique dans un grand nombre d'affections.

BIBLIOGRAPHIE

1912, Laveran (A.) et Mesnil (F.) : *Trypanosomes et Trypanosomiases*, Paris, 1912.

1921, Knuth (P.) und Du Toit (P.-J.) : Tropen-Krankheiten der Haustiere », in C. Mense, *Handbuch der Tropen-Krankheiten*, Leipzig, 1921.

1925, Schern (K.) : « Ueber Trypanosomen. I. Mitteilung : Das Phänomen der Trypanosomenwiederbelebung und das Vorhandensein vergärbarer Substanzen in den Lebern und deren Extracten, welche wiederbelebend wirken » (*Centralblatt f. Bakteriologie, etc.*, I, Originale, Bd. 96, 1925, p. 356.

1925, Schern (K.) : « Ueber Trypanosomen. II. Mitteilung : Sind in den Extrakten, welche aus den Lebern der an einer akuten Trypanosomiasis verendeten Tiere hergestellt sind, noch durch Hefe vergärbare Substanzen vorhanden ? » (*Id., ibid.*, p. 360).

1925, Schern : (K.) : « Ueber Trypanosomen. III. Mitteilung : In welcher Weise wirken die vermittels Hefe vergorene Extrakte der Lebern normaler Tiere inbezug auf das von mir beschriebene Trypanosomen phänomen ? » (*Id., ibid.*, p. 362).

1925, Schern (K.) : « Ueber Trypanosomen. IV. Mitteilung : Der Nachweis der das Trypanosomenphänomen der Wiederbelebung bedingenden Substanzen in Serum und Leber kronisch infiziert gewesener, Trypanosomenkranker Tiere » (*Id., ibid.*, p. 440).

1925, Schern (K.) : « Ueber Trypanosomen. V. Mitteilung : Das Trypanosomenphänomen und die Wirkung von Dextrose und Laevuloselösungen so wie von Leberbrei, Insulin, auf labile Trypanosomen » (*Id., ibid.*, p. 444).

1925, Schern (K.) : « Ueber Trypanosomen. VI. Mitteilung : Erörterungen über die Pathogenese der Trypanosomiasis auf Grund der Beobachtungen über das Zucker-phänomen der Trypanosomen » (*Id., ibid.*, p. 451).

1926, Dubois (A.) : « Le phénomène de K. Schern dans les trypanosomiases » (*C. R. Soc. Biol.*, t. 95, 1926, p. 1130).

1926, Fennyvessy (B. v.) : « Ueber die Bedeutung des Stoffwechsels der Parasiten für das Wirtstier bei der Trypanosomeninfektion » (*Bioch. Zeitschr.*, Bd. 173, 1926, p. 289).

1926, Labbé (M.) et Gavrila (I.) : « Turburări glyco-regulatoare in decursul boalelor infecțioase acute » (*Clujul Medical*, vol. VII, n° 9-10, 1926, p. 373).

1927, Dubois (A.) et Bouquaert (J.-P.) : Hypoglycémie au cours des trypanosomiases expérimentales » (*C. R. Soc. Biol.*, t. 96, 1927, p. 431.

1927, Savino (E.) : « Relation entre le nombre des Trypanosomes et les variations glycémiques dans les infections expérimentales, par *Trypanosoma equinum* » (*C. R. Soc. Biol.*, t. 96, 1927, p. 220).

1927, Savino (E.) : « Fonction de la rate chez les animaux infectés par le *Trypanosoma equinum* » (*C. R. Soc. Biol.*, t. 97, 1927, p. 1249).

1927, Schern (K.) : « Trypanosomiasen und Spirochäten als glycopenische Infektionen nebst Bemerkungen über eine « ergänzende Zellkomplextherapie ». (*Deutsche Tierärztl. Woch.*, Jahrgang 35, 1927, p. 283).

1927, Nicolicescu (N.) : *Glycemia in Scarlatină*, thèse de Bucarest, 1927.

1927, Gordier (G.) : « Etude de la glycémie et action du sérum glucosé et de l'insuline » (*C. R. Soc. Biol.*, t. 96, I, 1927, p. 971).

1927, Klieneberg (Karl) : *Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere*, Leipzig, 1927.

1928, Schern (K.) und Rossi, Lema, Libero : « Ueber Trypanosem. VII. Mitteilung : Blutzuckerwerte bei experimentell mit Mal de Caderas infizierten Tieren » (*Centralbl. f. Bakteriol.*, Bd. 108, 1928, p. 394).

1928, Scheef (G.) : « Ueber den intermediären Stoffwechsel der mit Trypanosomen infizierten Ratten » (*Bioch. Zeitschr.*, Bd. 200, 1928, p. 308).

1928, Roger (G.-H.) : *Traité de Physiologie normale et pathologique*, t. III, « Physiologie du foie et de l'appareil urinaire », Paris, 1928.

1927, Regendanz u. Tropp (C.) : « Das Verhalten des Blutzuckers und des Leberglykogens bei mit Trypanosomen infizierten Ratten » (*Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene*, Bd. 31, 1927, p. 376).

1928, Schern (K.) : « Ueber die Störung des Zuckerstoffwechsels bei Trypanosomiasen und Spirochätosen » (*Bioch. Zeitschr.*, Bd. 193, 1928, p. 266).

1929, Regendanz (K.) : « Der Blutzucker bei Trypanosomeninfektion » (*Arch. f. Schiffs u. Tropenkrankh.*, Bd. 33, 1928).

1929, Schern (K.) : « Zur Trypanosomenarbeit von Regendanz u. Tropp » (*Centralbl. f. Bakt.*, Bd. III, 1929, p. 139).

1929, Regendanz (P.) : « Erwiderung auf den Artikel von Schern, etc. » (*Centralbl. f. Bakt.*, I., Orig., Bd. 112, H. 3/4, p. 319).

SEIZE CAS DE NOUVEAU-NÉS VACCINÉS PAR LE B. C. G. ET MORTS DE MALADIES INTERCURRENTES

Etude histopathologique

par

M. MANICATIDE et I. NICOLAU

(Travail de la Clinique médicale infantile et de l'Institut de Sérologie de Bucarest.)

Il est établi, à l'heure actuelle, que le bacille tuberculeux bilié (B. C. G.) peut déterminer — à certaines doses — des lésions plus ou moins caractéristiques chez les animaux; mais, tandis que quelques auteurs font des réserves sur la nature, la durée et la gravité de ces lésions et affirment qu'au moins dans certaines conditions le vaccin pourrait récupérer sa virulence (Lignières, v. Pirquet, Nobel et Solé, Chiari, Petroff, Lowenstein, etc.), la plupart des auteurs prétendent juste le contraire et proclament l'absolue innocuité du vaccin (Calmette et Guérin, Kuhn, Leuret et Caussimont, Coulaud, Kraus, Korschun, Okell et Parish, Cantacuzène, Ciuca, Nasta et Veber, etc.).

Cependant, si le nombre des recherches histopathologiques faites chez les animaux et ayant pour objet l'étude des lésions que le vaccin pourrait déterminer dans leur organisme est assez grand, nous ne possédons que de très rares données sur de semblables recherches faites chez les enfants vaccinés.

A ce point de vue, un historique de la question est vite fait.

C'est ainsi que Girod et Debarge (1927), à l'autopsie d'un enfant prématuré, vacciné, provenant de mère tuberculeuse et mort à vingt-cinq jours, ne trouvent aucune lésion tuberculeuse.

Jakhnis (1927) ne trouve pas de lésions tuberculeuses à l'autopsie des prématurés ou des enfants cachectiques, vaccinés et morts entre dix jours et cinq mois, par maladie intercurrente.

Nasta et Veber (1928) donnent l'observation d'un enfant vacciné qui succombe à l'âge de quatre mois des suites d'une bronchopneumonie. Sur des coupes des organes, on n'a trouvé ni lésion tuberculeuse, ni bacilles acido-résistants. Les ganglions et des fragments de poumon triturés et inoculés à deux cobayes n'ont déterminé aucune lésion.

Une étude plus complète sur la question est celle de Ciuca, Franke et Vitner-Rosenthal (1928).

Ces auteurs ont étudié très consciencieusement cinq cas. Les lésions qu'ils ont trouvées — strictement limitées aux ganglions mésentériques — consistaient en une prolifération du tissu conjonctif et des cellules et fibrilles du réticulum ganglionnaire. Dans un de ces cas (obs. III), où il s'agissait d'un enfant hérédo-syphilitique, Ciuca et ses collaborateurs ont trouvé des formations folliculaires d'un aspect particulier; dans l'intérieur de ces formations, des bacilles acido-résistants en voie de désintégration. Quelques-uns de ces follicules étaient en pleine phase inflammatoire, avec afflux abondant de polynucléaires neutrophiles et de macrophages, d'autres en pleine régression et transformation fibreuse. Pas la moindre trace de lésion tuberculeuse ou suspecte de tuberculose dans les autres organes.

Un cobaye inoculé avec le broyage des ganglions mésentériques, mort par maladie intercurrente et autopsié trente jours après l'inoculation, ne montrait aucune lésion suspecte de tuberculose.

*
**

Nous avons étudié, chez des nourrissons vaccinés par le B. C. G. et ayant succombé à la suite de maladies intercurrentes, le sort des bacilles biliés introduits dans l'organisme, ainsi que les lésions histopathologiques éventuelles qu'ils auraient pu déterminer.

Notre matériel, provient de la Clinique médicale infantile de Bucarest et porte sur seize cas de nourrissons vaccinés par le B. C. G. et ayant succombé à des intervalles variant entre trois semaines et deux ans et demi.

Voici les détails de ces seize cas :

D'après le sexe, il y a eu :

Sexe masculin : 10 cas ;

Sexe féminin : 6 cas.

D'après l'âge :

3	cas morts à	3	semaines,
1	—	1	mois
2	—	2	—
1	—	2	mois et demi
1	—	3	mois
3	—	4	—
1	—	10	—
3	—	12	—
1	—	2	ans et demi.

Donc onze cas, soit *68,7 %*, décédés dans les quatre premiers mois. La cause de décès chez ces enfants a été :

Athrepsie et choléra infantile.....	10 fois
Broncho-pneumonie	3 —
Bronchite capillaire	1 —
Pleurésie purulente	1 —
Hypothrophie, hérédo-syphilis.....	1 —

Chez tous ces enfants, nous avons pratiqué la nécropsie le plus tôt possible, en tout cas jamais plus tard que vingt-quatre heures après le décès.

On a prélevé des fragments de différents organes, mais surtout des ganglions mésentériques, trachéobronchiques; puis des fragments de foie, rate, poumon, plus rarement d'autres organes.

Les fragments ont été fixés au formol 10 % et dans la solution de Bouin. Inclusions à la paraffine et colorations en général au hémalun-éosine, procédé Van Giesson, procédé Dominici et enfin Ziehl pour les bacilles acido-résistants.

En plus, des fragments de ganglions et des différents organes ont été broyés et on a fait des frottis pour la recherche des bacilles acido-résistants et des inoculations à des cobayes.

Dans ce qui suit nous donnons :

— la feuille d'observation clinique — très résumée — de chaque cas, à laquelle nous ajoutons le protocole de la nécropsie et les résultats des examens histopathologiques ;

— le résultat global des examens des frottis faits du broyage des organes ;

— le résultat des inoculations aux cobayes ;

— enfin la discussion des résultats obtenus et les conclusions.

*
**

I. — Angela V..., sexe féminin, âgée de trois semaines. Entre dans le service le 5 novembre 1928.

Père sain. Chez la mère, réaction Bordet-Wassermann positive intense.

Née à terme à la Maternité. Vaccinée par le B. C. G. Allaitement au sein.

Début de la maladie il y a cinq jours, avec fièvre, diarrhée, vomissements.

Etat général mauvais. Succombe le 3 décembre 1928.

Diagnostic: hypotrophie, hérédo-syphilis, troubles de nutrition, muguet.

Protocole de nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Congestion intense dans les régions postéro-inférieures des deux poumons, particulièrement dans celui de droite. Des fragments prélevés à ce niveau présentent la docimasie négative.

Légère hyperhémie du foie.

La rate est augmentée de volume, la capsule se décortique difficilement.

Légère congestion des reins.

Les ganglions trachéo-bronchiques et mésentériques d'aspect normal.

Examen microscopique (1). — *Ganglions mésentériques.* — Très nombreuses travées épaisses de tissu conjonctif qui s'insinuent parmi les cellules et parcourent tout le territoire ganglionnaire.

Les ganglions présentent un aspect général uniforme, de sorte qu'il est difficile de déterminer une limite de séparation entre les substances corticale et médullaire.

Rares follicules, sans centres germinatifs, dans la substance corticale.

La paroi des vaisseaux sanguins est très épaissie.

Foie. — Très hyperhémié, présente des foyers de sclérose manifeste dans les espaces de Kiernan.

Rate. — Enorme congestion ; les vaisseaux sont gorgés de sang, les cellules du réticulum pleines de pigment.

Reins. — Forte congestion.

(1) A l'examen microscopique, nous donnons une description détaillée seulement pour les ganglions mésentériques. Pour les autres organes, comme nous n'avons jamais trouvé des lésions qu'on pourrait attribuer au B. C. G., nous nous contentons d'une description beaucoup plus sommaire et quelquefois d'une simple indication.

II. — Lenuta R..., sexe féminin, âgée de deux mois et demi. Est admise à la clinique le 5 juillet 1928.

Parents sains. Née à terme à la Maternité, accouchement dystocique.

Poids à la naissance : 4300 grammes. Vaccinée par le B. C. G.

Allaitement au sein jusqu'à un mois, allaitement mixte, très défectueux, après.

A l'entrée, l'enfant présente le tableau classique de l'athrepsie.

Légers signes de congestion aux deux bases pulmonaires. Le foie dépasse d'un travers de doigt le rebord costal, la rate est légèrement augmentée de volume.

A l'examen radioscopique, on ne trouve pas de lésion pleuro-pulmonaire.

Décès le 11 juillet 1298.

Diagnostic : athrepsie et choléra infantile.

Protocole de nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Congestion aux deux bases pulmonaires. A la section s'écoule un liquide spumeux. Dans le lobe supérieur du poumon gauche, on trouve une petite région densifiée, jaunâtre, triangulaire, le sommet en dedans et la base en dehors.

Foie : dégénérescence graisseuse très accentuée.

Rate : normale.

Reins : très congestionnés.

Les ganglions mésentériques sont très augmentés de volume.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — La capsule envoie dans le tissu ganglionnaire de nombreuses travées conjonctives très épaisses.

Le sinus marginal est inexistant.

Dans la substance corticale, de très rares follicules, en majorité dépourvus de centres germinatifs. Ici et là, quelques follicules sclérosés.

Les cordons lymphoïdes médullaires bien dessinés. Prolifération des cellules endothéliales des sinus, surtout médullaires, avec évident épaississement des fibrilles du réticulum.

La paroi des vaisseaux sanguins est très épaissie.

Poumons. — Hyperhémie.

Foie. — Dégénérescence graisseuse très accentuée.

Rate, reins. — Lésions sans importance.

III. — Natalia M..., sexe féminin, âgée de trois mois.

Entre dans le service le 18 septembre 1928.

Parents sains, premier enfant.

Née à terme à la Maternité. Poids à la naissance: 4500 grammes.

Vaccinée par le B. C. G. Allaitement au sein.

A l'entrée, l'enfant présente les symptômes d'un choléra infantile grave avec pyodermite. Fièvre: 40° C. Succombe le lendemain.

Diagnostic. — Choléra infantile, pyélonéphrite.

Protocole de nécropsie (Dr Popovici-Lupa). — Poumons : rien d'important.

Le cœur droit flasque, le gauche légèrement hypertrophié.

Foie : Hyperhémie intense du lobe droit, nombreux îlots de dégénérescence graisseuse dans le lobe gauche.

Rate : Augmentée de volume, scléreuse.

Reins : Très congestionnés, la substance corticale très augmentée de volume, œdématiée. Les pyramides sont atrophiées. Un liquide abondant purulent s'écoule des calices.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Les sinus très apparents et très œdématiés. Nombreux follicules dont quelques-uns avec des centres germinatifs. Les cordons lymphoïdes très bien dessinés. Prolifération conjonctive modérée. Le nombre des cellules endothéliales nettement augmenté.

Foie. — Congestion, dégénérescence graisseuse.

Rate. — Rien d'important.

Reins. — Périnéphrite, nombreux abcès miliaires disséminés dans l'épaisseur du parenchyme rénal. Les parois des calices et du bassinet congestionnées et recouvertes d'un exsudat purulent.

IV. — Simona I..., sexe féminin, âgée de quatre mois.

Admise à la clinique le 22 septembre 1928.

Parents sains. Née à terme, poids à la naissance: 3800 grammes.

Vaccinée par le B. C. G. Allaitement au sein jusqu'à deux mois et demi ; depuis, allaitement mixte.

Début il y a deux semaines avec fièvre, vomissements et des selles liquides verdâtres.

A l'entrée, l'enfant présente les symptômes d'un choléra infantile grave, avec des manifestations nerveuses (convulsions cloniques et toniques, strabisme convergent, etc.). Mauvais état général. Décès le lendemain.

Diagnostic. — Choléra infantile.

Protocole de nécropsie. — Hyperhémie aux deux bases pulmonaires.

La consistance du tissu légèrement augmentée. Un nodule broncho-pneumonique dans le lobe inférieur gauche.

Foie : congestion très nette.

Rate ; reins : rien d'important.

Les ganglions mésentériques et trachéobronchiques d'aspect normal.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Tableau histopathologique presque identique à celui présenté dans l'observation précédente.

Poumon. — Dans le nodule broncho-pneumonique, on n'a trouvé ni lésion tuberculeuse, ni bacilles acido-résistants.

Rien d'important dans les autres organes.

V. — Letitia S..., sexe féminin, âgée de treize mois.

Admise à l'hôpital le 20 juin 1928.

L'enfant est apportée à l'hôpital par une personne qui n'est pas de la famille et qui ne peut fournir des indications anamnésiques précises. Les renseignements pris à la Maternité, nous confirment que l'enfant a été vaccinée par le B. C. G.

A l'entrée, on trouve des signes évidents de rachitisme et une micropolyadénopathie généralisée. Foyer broncho-pneumonique du côté du poumon gauche. Foie augmenté de volume.

Rien d'important du côté des autres organes.

La cutiréaction à la tuberculine a été négative.

A l'examen radioscopique, on trouve une opacité homogène périhilaire droite et une autre opacité dans la région sous-claviculaire gauche.

Le 27 juillet s'installe un complexus symptomatique toxique rapide et l'enfant est emportée.

Diagnostic. — Broncho-pneumonie et choléra infantile.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Poumons augmentés de volume, pâles, emphysémateux sur les bords, congestionnés aux bases, surtout à la base du poumon gauche, où on trouve une région plus compacte, plus dense. A ce niveau, sur la tranche de section, on voit des gouttelettes de pus jaune verdâtre sourdre des bronches coupées.

Foie. — Dégénérescence graisseuse très accentuée.
Rate. — Légère sclérose.
Les ganglions mésentériques sont très augmentés de volume.
Rien d'important dans les autres organes.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Nombreuses travées conjonctives qui traversent l'organe dans toute son étendue. Le sinus marginal est très étroit. Les follicules lymphatiques sont très apparents et présentent de nombreux centres germinatifs, en pleine phase d'activité (Maximow).

Quelques follicules sont sclérosés, avec de très nombreux restes nucléaires et une grande prolifération du tissu réticulaire. Les vaisseaux sanguins ont les parois très épaissies et quelques-uns sont oblitérés. Dans les sinus médullaires, fréquentes polynucléaires neutrophiles et éosinophiles.

Poumon. — Hyperhémie; à la base du poumon gauche, nodules péribronchiques avec alvéoles distendues et bourrées de leucocytes.

Foie. — Dégénérescence graisseuse.
Rien d'important dans les autres organes.

VI. — Constanta N..., sexe féminin, âgée d'un an.
Entre à la clinique le 1er juin 1928.
Les parents sains. Née à terme. Poids à la naissance : 3500 grammes.
Vaccinée par le B. C. G. Allaitement au sein, défectueux.
Début il y a un mois, avec fièvre, dyspnée, toux et vomissements.
A l'entrée, état général mauvais, micropolyadénopathie généralisée. Du côté du poumon droit, foyer broncho-pneumonique, avec épanchement à la base.

Examen radioscopique. — Scizurite supérieure droite et opacité à la base droite. Décès le 13 juin 1928.

Diagnostic. — Broncho-pneumonie.

Nécropsie (Dr Popovici-Lupa). — Poumons : atélectasie et emphysème dans le lobe supérieur droit. Des adhérences entre le lobe supérieur et moyen. Hyperhémie aux deux bases pulmonaires.
Des adhérences entre le poumon droit et les gouttières costo-vertébrales.

Abondant liquide séro-citrin dans le péricarde.

Le cœur est pâle et flasque.

Le foie présente une dégénérescence graisseuse très accentuée.

La rate est très augmentée de volume.

Les ganglions trachéobronchiques et mésentériques sont très augmentés de volume.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Travées conjonctives très épaisses. Sinus marginal à peine ébauché. Dans la substance corticale, de nombreux follicules, dont quelques-uns présentent des centres germinatifs à la période de repos.

Quelques follicules sclérosés. Le pourcentage des cellules endothéliales très augmenté. Légère prolifération des fibrilles du tissu réticulaire. Dans les sinus, on trouve quelques polynucléaires neutrophiles et éosinophiles.

Ganglions trachéobronchiques. La structure générale intacte. Les vaisseaux gorgés de sang. Dans les sinus, des polynucléaires neutrophiles en très grand nombre.

Foie. — Dégénérescence graisseuse.

Rate. — Très hyperhémiée, les cellules réticulaires sont pleines de pigment.

Rien d'important dans les autres organes.

VII. — Gheorghe D..., sexe masculin, âgé de trois semaines.

Entre à l'hôpital le 25 juin 1928.

Les parents sains. Né à terme. Poids à la naissance : 3.500 grammes.

Vacciné par le B. C. G. Allaitement au lait de vache, très défectueux.

Début il y a deux semaines.

A l'entrée, l'enfant présente l'aspect classique de l'athrepsie.

Décès le 29 juin 1928.

Diagnostic. — Athrepsie.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Hyperhémie de tous les organes. L'intestin rétracté. Les ganglions mésentériques et trachéobronchiques légèrement augmentés de volume.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Le sinus marginal est presque absent. La substance corticale se présente comme une masse uniforme de tissu lymphoïde, avec de très rares follicules sans centres germinatifs. La substance médul-

laire présente le même aspect uniforme, dans lequel on distingue très difficilement les sinus. Rares polynucléaires neutrophiles et éosinophiles dans les sinus.

Poumons. — Rien d'important.

Foie. — Enorme dégénérescence graisseuse.

Rate. — Enorme hyperhémie. Les vaisseaux sont gorgés de sang et les cellules réticulaires pleines de pigment.

VIII. — Ion P..., sexe masculin, âgé de trois semaines.

Admis à l'hôpital le 6 septembre 1928.

Les parents sains. Né à huit mois. Poids à la naissance : 3000 grammes.

Vacciné par le B. C. G. Allaitement mixte, irrégulier.

Début il y a deux semaines avec fièvre, selles fréquentes, vomissements et toux. Depuis quatre jours, l'état de l'enfant a empiré.

A l'entrée, l'enfant est cyanotique, l'état général mauvais, dyspnée très marquée. Foyers broncho-pneumoniques aux deux bases pulmonaires.

Le foie et la rate sont augmentés de volume. L'enfant a aussi le muguet. Décès le 7 septembre 1928.

Diagnostic. — Broncho-pneumonie, athrepsie et choléra infantile.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Foyer broncho-pneumonique dans le lobe inférieur du poumon droit. Atélectasie dans le reste. Dans le poumon gauche, on trouve des foyers discrets de broncho-pneumonie disséminée.

Foie augmenté de volume, très congestionné.

Rate augmentée de volume.

Les ganglions mésentériques sont très augmentés de volume.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — De très nombreuses travées conjonctives dans la substance corticale et médullaire. Très rares follicules, mal délimités, avec quelques ébauches de centres germinatifs. Les sinus intermédiaires et médullaires très apparents. Une prolifération très accentuée des tissus conjonctif et réticulaire. Le pourcentage des cellules endothéliales augmenté. La paroi vasculaire est épaissie et les vaisseaux gorgés de sang.

Ganglions trachéobronchiques. — Enorme congestion.

Poumons. — Nodules péribronchiques disséminés, alvéoles distendues par l'exsudat et l'infiltrat leucocytaire.

Foie. — Dégénérescence graisseuse massive.

Rate. — Congestion et légère sclérose.

IX. — Gheorghe G..., sexe masculin, âgé de six semaines.

Entre à l'hôpital le 12 septembre 1928.

La mère saine ; le père mort, il y a quatre mois, d'une maladie dont la mère ne peut pas préciser la nature.

Né à terme ; poids à la naissance : 2800 grammes. Vacciné par le B. C. G.

Allaitement exclusivement au sein.

Début, il y a trois jours, avec fièvre, vomissements, diarrhée et convulsions.

A l'entrée, foyer broncho-pneumonique à la base pulmonaire droite, râles de bronchite disséminés aux deux poumons. Nombreuses selles diarrhéiques. Décès le 20 septembre 1928.

Diagnostic. — Broncho-pneumonie, troubles de nutrition.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Les lobes inférieurs et postérieurs des deux poumons sont turgescents et la consistance du parenchyme est augmentée.

Sur la tranche de section, on voit une congestion assez marquée et, si l'on exprime le parenchyme, on voit sourdre un liquide œdémateux et des petites gouttelettes de pus. Dans le lobe inférieur droit, on trouve des lésions évidentes de broncho-pneumonie.

Le cœur droit est très dilaté.

Foie : dégénérescence graisseuse et hyperhémie.

Les ganglions mésentériques sont augmentés de volume.

Examen microscopique.— *Ganglions mésentériques.*— Travées conjonctives très épaisses. Le sinus marginal très développé. Dans la substance corticale, on voit de très rares follicules, sans centres germinatifs. Dans les sinus, surtout médullaires, on trouve un exsudat homogène, œdémateux. La paroi des vaisseaux sanguins est épaissie et hyalinisée. Les vaisseaux eux-mêmes sont gorgés de sang. La substance lymphoïde proprement dite est très réduite, tandis que les sinus sont, au contraire, très développés.

Poumon. — Nodules péribronchiques, exsudat et infiltration dans les alvéoles, congestion, œdème, emphysème compensatoire.

Rien d'important dans les autres organes.

X. — Constantin P..., sexe masculin, âgé de deux mois.

Admis à la clinique le 15 septembre 1928.

Parents sains.

Né à terme ; poids à la naissance : 3400 grammes. Vacciné par le B. C. G.

Allaitement au sein, assez correct.

Début, il y a un mois, avec toux fréquente, accompagnée de vomissements alimentaires et muqueux.

A l'entrée, l'enfant présente des signes légers de rachitisme. Les téguments sont cyanotiques. Hydrocèle. A l'examen somatique, on trouve une pleurésie purulente gauche.

A l'examen microscopique du liquide purulent, on a trouvé un très grand nombre de polynucléaires neutrophiles et de nombreux staphylocoques.

Le foie dépasse de deux travers de doigts le rebord costal.

La rate est aussi augmentée de volume.

Rien d'important ailleurs.

Le 17 septembre, on pratique la pleurotomie dans le service du professeur Bălăcesco.

Le lendemain, l'enfant succombe.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — La cavité pleurale gauche est remplie par un liquide purulent. La plèvre est épaissie et présente de nombreux dépôts fibrineux. Le poumon gauche est comprimé dans la gouttière vertébrale et il y a des adhérences avec la plèvre diaphragmatique. Le poumon droit présente de nombreux nodules broncho-pneumoniques, disséminés.

Dans le péricarde, on trouve un abondant liquide séro-citrin.

Le cœur droit présente une énorme dilatation.

Foie : hyperhémie et dégénérescence graisseuse très avancée.

Rien d'important dans les autres organes.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Prolifération très marquée du tissu conjonctif. Le sinus marginal presque absent. Dans la substance corticale, de nombreux follicules, la plupart avec des centres germinatifs en pleine phase d'activité. Prolifération assez marquée des cellules endothéliales et des fibrilles du réticulum. Les sinus médullaires sont remplis d'un exsudat homogène, acellulaire et de polynucléaires neutrophiles assez fréquentes. La paroi des vaisseaux sanguins est très épaissis et on trouve même quelques vaisseaux oblitérés.

Ganglions trachéobronchiques. — La structure générale du

ganglion à peu près intacte. Enorme hyperhémie. Dans les sinus, un grand nombre de polynucléaires neutrophiles.

Poumons. — Nombreux nodules péribronchiques disséminés, nombreux petits abcès microscopiques dans le parenchyme pulmonaire, au voisinage de la plèvre.

Foie. — Très congestionné.

Rate. — Enorme congestion.

Rien d'important dans les autres organes.

XI. — Dumitru S..., sexe masculin, âgé de deux mois.

Admis à la clinique le 9 juillet 1928.

Les parents sont sains.

Né à terme, poids à la naissance : 4500 grammes. Vacciné par le B. C. G.

Allaitement au sein jusqu'à un mois ; depuis, allaitement artificiel plus ou moins correct.

Début brusque, il y a quatre jours, avec fièvre, convulsions et toux.

A l'entrée, dyspnéisant, cyanotique, l'enfant est presque moribond.

A l'auscultation des poumons, on entend des râles sous-crépitants et des râles de bronchite disséminée. Les bruits du cœur sont très sourds.

Le foie est augmenté de volume. Décès le même jour.

Diagnostic. — Bronchite capillaire.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Poumons : foyers d'hyperhémie, disséminés dans le parenchyme pulmonaire. Les deux poumons sont turgescents, emphysémateux sur les bords.

Foie : très congestionné.

Rate et reins, très congestionnés.

Examen microscopique. — Travées conjonctives très nombreuses et très épaisses. Le sinus marginal est à peine ébauché. Très nombreux follicules, dont quelques-uns présentent des centres germinatifs assez nettement dessinés.

Prolifération accentuée du tissu réticulaire et des cellules endothéliales. Dans les sinus médullaires, on trouve quelques rares polynucléaires neutrophiles et de très rares éosinophiles.

Les ganglions sont très hyperhémiés.

Poumons. — Le parenchyme est très hyperhémié, les alvéoles

sont remplis d'un liquide œdémateux. Rares nodules broncho-pneumoniques, disséminés.

Foie. — Très congestionné, discrète dégénérescence graisseuse.

Rate. — Enorme congestion. Les follicules sont très apparents, les cellules réticulaires pleines de pigment.

Capsule surrénale, thymus : congestion intense.

XII. — Nicolae Fr..., sexe masculin, âgé de quatre mois.

Entre à la clinique le 31 juillet 1928.

Parents sains. Né à terme ; poids à la naissance: 3000 grammes.

Vacciné par le B. C. G. Allaitement au sein pendant la première semaine ; depuis, allaitement artificiel.

Début il y a une semaine, avec vomissements, selles liquides, verdâtres, fièvre.

A l'entrée : craniotabes; aspect classique du choléra infantile fébrile. Pouls à 150, respiration à 52. Légère sous-matité à la base pulmonaire droite.

Le foie et la rate sont augmentés de volume.

Décès le lendemain.

Diagnostic. — Choléra infantile

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Poumons : congestion hypostatique aux deux bases.

Thymus : très augmenté de volume.

Le cœur pâle, flasque.

Foie : très grande dégénérescence graisseuse.

Rien d'important dans les autres organes.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Prolifération très accentuée du tissu conjonctif. Les follicules très apparents, quelques-uns sont sclérosés. Dans les sinus médullaires, on trouve un nombre assez grand d'éosinophiles.

Prolifération très accentuée des cellules et fibrilles du tissu réticulaire.

Rien d'important dans les autres organes.

XIII. — Sergiu D..., sexe masculin, âgé de quatre mois.

Admis à la clinique le 30 juillet 1928.

Parents sains. Né à terme; poids à la naissance : 2750 grammes.

Vacciné par B. C. G. Allaitement au sein jusqu'à trois mois, allaitement mixte depuis.

Début de la maladie il y a huit jours, avec fièvre, diarrhée et

vomissements. A l'entrée, l'enfant est très déshydraté. Il présente les symptômes d'un choléra infantile grave.

Légère sous-matité à la base pulmonaire gauche. A ce niveau, on entend quelques râles sous-crépitants.

Décès le 8 août 1928.

Diagnostic. — Choléra infantile.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Poumons : hyperhémie dans la région postéro-inférieure du poumon gauche. A la section, il s'écoule un liquide spumeux.

Le cœur est pâle et flasque. L'infundibulum pulmonaire présente une légère dilatation.

Foie : dégénérescence graisseuse massive.

Rien d'important ailleurs.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Légère prolifération du tissu conjonctif. Le sinus marginal d'aspect normal. Les follicules, très apparents, présentent presque tous des centres germinatifs en pleine phase d'activité (Maximow). Très grande prolifération des cellules endothéliales. Dans les sinus médullaires, on trouve des grandes cellules pâles, vitreuses, mal limitées, qui ressemblent à celles décrites par M. Labbé dans la fièvre typhoïde. On trouve toujours dans les sinus médullaires quelques rares éosinophiles. Les parois vasculaires sont très épaisses.

Foie. — Enorme dégénérescence graisseuse.

Rien d'important dans les autres organes.

XIV. — Dumitru L..., sexe masculin, âgé de dix mois.

Admis à la clinique le 30 décembre 1928.

Le père est malade de rhumatisme polyarticulaire aigu, la mère est saine.

Né à terme. Vacciné par le B. C. G. Allaitement mixte.

L'enfant a eu récemment la rougeole.

Début de la maladie il y a huit jours; l'enfant a commencé à tousser et à fébriciter.

A l'entrée : fébrile, la respiration à 56, dyspnéisant, léger tirage sus-sternal, cyanotique. Sous-matité à la base des deux poumons, à partir du sommet de l'omoplate. A ce niveau, on entend des râles sous-crépitants. Dans l'aisselle droite, la respiration est soufflante et on entend, ici aussi, quelques râles sous-crépitants.

A l'examen radioscopique, on trouve des foyers broncho-pneumoniques dans les deux poumons.

Le foie dépasse de quatre travers de doigts le rebord costal.

La rate, elle aussi augmentée, dépasse de deux travées.

L'enfant succombe le 11 janvier 1929.

Diagnostic. — Broncho-pneumonie grippale.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Poumons : les deux poumons sont très turgescents dans les régions postéro-inférieures, emphysémateux vers les rebords antérieurs. Congestion intense dans les lobes supérieur et inférieur droits. A ce niveau, le parenchyme est friable, très tuméfié, avec des zones d'atélectasie.

Dans le péricarde, on trouve une certaine quantité de liquide séro-citrin.

Le cœur droit est très augmenté de volume, les cavités sont remplies de coagulums cruoriques. Le muscle est flasque, pâle. L'infundibulum pulmonaire est très dilaté.

Les ganglions trachéo-bronchiques sont très augmentés de volume, mais ne présentent aucune trace de lésion tuberculeuse.

Foie très hypertrophié, hyperhémique, atteint de dégénérescence graisseuse.

Rate très hypertrophiée.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Nombreuses travées conjonctives qui partent de la capsule et se répandent dans l'organisme entier. Le sinus marginal très étroit. Dans la substance corticale, de nombreux follicules, avec centres germinatifs très apparents. Les sinus médullaires, très bien dessinés, sont remplis d'un exsudat homogène. Le pourcentage des cellules endothéliales très augmenté.

Ganglions trachéo-bronchiques. — La structure générale est intacte. Congestion intense, avec de petits foyers d'hémorragie. Très nombreux follicules, en grande majorité sans centres germinatifs. Dans les sinus médullaires, polynucléaires neutrophiles en grand nombre. Les cellules réticulaires pleines de pigment.

Poumons. — Nodules péribronchiques, énorme congestion.

Foie. — Très congestionné.

Rate. — Enorme congestion, les vaisseaux gorgés de sang, une grande quantité de pigment dans les cellules du réticulum.

Rien d'important dans les autres organes.

XV. — Constantin O..., sexe masculin, âgé de treize mois.

Admis à la clinique le 21 août 1928.

Parents sains. Né à terme; poids à la naissance : 3350 grammes.

Vacciné par le B. C. G. Allaitement au sein jusqu'à quatre mois, allaitement artificiel après.

Début de la maladie il y a deux semaines, avec vomissements, diarrhée et fièvre.

A l'entrée, l'enfant présente des signes manifestes de rachitisme.

Aspect classique de l'atrepsie.

Décès le 24 août 1928.

Diagnostic. — Athrepsie.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Poumons : rien d'important.

Un peu de liquide séro-citrin dans le péricarde.

Le cœur est petit, pâle, flasque.

Foie : Très intense dégénérescence graisseuse.

Rien dans les autres organes.

Les ganglions mésentériques sont très augmentés de volume.

Examen microscopique. — *Ganglions mésentériques.* — Très nombreuses travées conjonctives. Le sinus marginal très étroit. Les follicules plutôt rares, bien dessinés, ne présentent pas de centres germinatifs. Très grande congestion, tous les vaisseaux sanguins sont gorgés de sang. Très grande prolifération du tissu réticulaire. Dans les sinus médullaires, quelques éosinophiles.

Rien d'important dans les autres organes.

XVI. — Marin M..., sexe masculin, âgé de deux ans et demi.

Entre à la clinique le 18 septembre 1928.

Le père est un ancien spécifique, la mère a eu cinq fausses couches.

Né à terme; poids à la naissance 3750 grammes. Vacciné par le B. C. G.

Allaitement au sein jusqu'à quatorze mois.

L'enfant a eu, il y a cinq mois, une angine diphtérique.

Début de la maladie il y a cinq jours, avec fièvre et des douleurs dans l'articulation scapulo-humérale droite.

Depuis deux jours, l'état de l'enfant a empiré brusquement.

Etat à l'entrée. — L'enfant présente des signes de rachitisme. Presque toutes les articulations sont tuméfiées et très douloureuses. Double pneumonie et pleurésie purulente.

Dans le pus des arthrites et dans le liquide purulent de pleurésie, on a trouvé de nombreux pneumocoques.

Décès le 22 septembre 1928.

Diagnostic. — Septico-pyohémie pneumococcique.

Nécropsie (Dr M. Popovici-Lupa). — Infiltration purulente dans le tissu sous-cutané et dans les muscles de la région antérieure du thorax gauche, qui se continue avec le foyer de pleurésie purulente.

Poumons : dans la cavité du thorax gauche, on trouve un abondant liquide purulent jaune verdâtre. Les plèvres pariétale et viscérale présentent de nombreux dépôts séro-purulents. Le poumon gauche est augmenté de volume, congestionné, friable.

Le poumon droit est ratatiné et présente une hyperhémie hypostatique très accentuée. Dans le parenchyme, il y a de nombreux nodules broncho-pneumoniques disséminés.

Le cœur est pâle et très dilaté.

Foie : Hyperhémie et dégénérescence graisseuse.

Rate hypertrophiée et congestionnée.

Rien d'important dans les autres organes.

Examen microscopique. — Les *ganglions mésentériques* et les *ganglions trachéobronchiques* présentent un tableau histopathologique presque identique à celui de l'observation XIV.

Poumons. — Lésions banales de broncho-pneumonie avec congestion, zones d'emphysème et d'atélectasie.

Foie. — Congestion et un certain degré de dégénérescence graisseuse.

Rate. — Très forte congestion.

*
**

Dans les frottis faits avec le broyage des ganglions mésentériques et trachéobronchiques, le poumon, le foie, la rate, les reins, la capsule surrénale, le thymus, les amygdales, nous n'avons jamais trouvé — malgré des recherches très minutieuses et très patientes — de bacilles acido-résistants. Nous n'avons pas trouvé non plus de granulations gramophyles après la coloration Much.

⁂

Pour chacun de nos cas, nous avons inoculé à des cobayes des ganglions mésentériques et trachéobronchiques triturés et des fragments des différents organes pris dans les régions qui présentaient des lésions ou un aspect tant soit peu suspect. En dehors des animaux, inoculés surtout avec des fragments de tissu pulmonaire et qui ont donné une grande mortalité du fait des infections causées par les microbes des foyers broncho-pneumoniques, pas un de nos animaux n'a présenté de manifestation morbide.

A la nécropsie de ces cobayes, sacrifiés à de longs intervalles après l'inoculation (quatre à six mois), nous n'avons jamais trouvé, ni à l'examen macroscopique, ni à l'examen microscopique, de lésions de tuberculose; jamais non plus de bacilles acido-résistants.

⁂

En résumé, à l'examen macroscopique, nous n'avons jamais trouvé — sur nos cas — que des lésions banales en rapport direct avec la maladie intercurrente.

En ce qui concerne l'examen microscopique, nous n'avons trouvé de lésions que dans les ganglions mésentériques, consistant en sclérose et prolifération du tissu conjonctif et réticulaire que l'on pourrait mettre sur le compte du bacille bilié.

Mais, quand il s'agit d'interpréter au juste ces lésions, on se heurte à de grandes difficultés. D'abord la structure des ganglions du nouveau-né diffère de ceux de l'adulte, « *ils ont une structure plus compacte, plus massive que les ganglions complètement développés* » (Jolly). Puis, pendant la première année et surtout dans les premiers mois, ces ganglions sont en transformation continuelle avant d'arriver à leur complet développement. C'est ainsi que « *les centres germinatifs n'apparaissent que tardivement, et seulement après la naissance chez l'homme* » (Baum et Hille).

« *Chez l'homme, on ne commence à voir les centres germinatifs que vers l'âge de deux à trois mois et souvent même à la fin de la première année.* » (Jolly.)

En ce qui concerne le pourcentage des cellules endothéliales, Maximow soutient que, chez les nouveau-nés et les nourrissons, l'augmentation du pourcentage de ces cellules est normale.

« *Chez l'homme, ces cellules sont, à l'état normal, peu nombreuses, mais les moindres causes d'inflammation au voisinage d'un ganglion, l'irritation produite par la résorption des globules rouges ou des corps étrangers les font apparaître en nombre plus grand.* » (Jolly.)

Enfin, quand on a à interpréter des lésions de cette nature, on ne peut pas ne pas faire la part de la maladie intercurrente qui a tué l'enfant.

Comme nous l'avons dit, un grand nombre des enfants étudiés par nous sont morts du fait de maladies gastro-intestinales qui s'accompagnent, en dehors d'autres phénomènes morbides, d'un degré d'inanition plus ou moins grave. Or, l'on connaît les effets de l'inanition sur tous les organes lymphoïdes et tout particulièrement sur les ganglions mésentériques. « *Les modifications structurales, dans ces ganglions, consistent essentiellement dans une raréfaction des lymphocytes qu'on observe dans la substance médullaire et corticale. Ces cellules présentent de nombreuses figures de pycnose nucléaire.* DANS CES GANGLIONS ATROPHIÉS, LE TISSU CONJONCTIF PARAIT RELATIVEMENT PLUS ABONDANT. » (Jolly.)

Une autre catégorie de nos enfants sont morts du fait de maladies de l'appareil respiratoire n'ayant rien de commun avec la tuberculose (surtout de broncho-pneumonie). Or, ces maladies provoquent des lésions dans les ganglions. Ces lésions, qui ont été très bien décrites pour les ganglions trachéobronchiques par Cornil et Ranvier, Menetrier et Marcel Labbé, sont absolument superposables à celles que nous avons trouvées :

1° *Congestion intense pouvant aller jusqu'à l'hémorragie ;*

2° *Dans les follicules, la disparition des centres germinatifs ;*

3° *Dans les voies lymphatiques, l'apparition de leucocytes polynucléaires, au début de la maladie, puis leur disparition dans la suite par nécrose ou englobement par les macrophages ;*

4° *Le gonflement et la multiplication des cellules fixes du réticulum,* etc.

Pour apprécier quelles sont les lésions ganglionnaires, que l'on pourrait attribuer plus particulièrement au bacille bilié, en tenant compte de tous les facteurs mentionnés, il ne nous reste qu'à comparer, chez des témoins du même âge et morts à peu près des suites des mêmes affections, les ganglions de la même région. C'est ce que nous avons fait; le résultat a été que *nous n'avons jamais trouvé, chez les non-vaccinés,* DANS LES GANGLIONS MÉSENTÉRIQUES, *les lésions que nous venons de décrire* et qu'on trouve

toujours, sous un aspect à peu près identique, chez nos vaccinés morts à différents âges des suites des maladies diverses.

Ces lésions sont-elles dues au bacille de Calmette-Guérin ? Il est très difficile de donner une réponse catégorique, dans un sens ou dans l'autre, à cette question.

Dans l'observation III de Ciuca, Frank et Vitner-Rosenthal, on a trouvé, dans les ganglions mésentériques, des bacilles acido-résistants en quantité. Dans les cas étudiés par nous, nous n'en avons jamais trouvé ni sur les coupes colorées au Ziehl, ni dans le broyage des organes, ni enfin par inoculation aux cobayes de bacilles acido-résistants.

Toutefois, si l'on tient compte d'une part du fait qu'on ne conteste plus aujourd'hui le passage des bacilles à travers la muqueuse intestinale, ainsi que leur pénétration dans l'organisme (voir, entre autres, les expériences si concluantes de Boquet et de Nélis), et d'autre part les lésions dans les ganglions mésentériques, qu'on ne trouve sous cet aspect et avec cette régularité que chez les enfants vaccinés par le B. C. G., on est forcé d'admettre que ces lésions sont dues très probablement aux bacilles biliés.

Dès l'instant que nous admettons comme démontré le passage des bacilles biliés dans l'organisme, d'autres questions se posent aussitôt.

D'abord, est-il possible que des lésions de sclérose si avancées puissent se développer dans un intervalle de temps aussi court (en effet, nous les avons trouvées au complet, ou presque, chez des enfants de trois semaines) ?

En tenant compte du caractère quasi embryonnaire du tissu conjonctif chez les nouveau-nés et de son infinie aptitude de transformation et prolifération sous l'influence d'irritations minimes (Jolly, Maximow), la chose apparaît comme très possible.

Une autre question qui se pose concerne l'élimination du bacille bilié de l'organisme.

Nous ne l'avons plus trouvé chez nos enfants de trois semaines et le caractère des lésions que nous avons rencontrées à cet âge (lésions de sclérose, reliquats d'un processus inflammatoire en voie de réparation) nous montre que le processus actif est terminé avant trois semaines. De ce fait, le problème est limité : *l'élimination du bacille bilié de l'organisme semble se faire même avant trois semaines.*

CONCLUSIONS

De l'ensemble de nos observations résultent les conclusions suivantes :

1° Jamais, à l'autopsie, nous n'avons rencontré de lésions tuberculeuses macroscopiques, quel que soit l'intervalle écoulé entre l'injection du vaccin et la mort de l'enfant (jusqu'à deux ans et demi) ;

2° L'inoculation au cobaye de ganglions broyés (ganglions mésentériques et trachéobronchiques) ou d'organes divers est constamment demeurée négative ;

3° Ni sur les coupes, ni sur les frottis d'organes broyés, nous n'avons pu mettre en évidence de bacilles acido-résistants, bien que, chez certains de nos vaccinés, la mort se soit produite moins de trois semaines après la vaccination (trois cas) ;

4° L'étude histopathologique des ganglions ne nous a montré que des lésions de prolifération endothéliale des sinus ou des lésions de sclérose ne présentant aucun caractère de spécificité. Ces lésions sont-elles dues à des causes autres que la présence du B. C. G. (inanition, infections intestinales, etc.), ou peuvent-elles être rapportées à l'action antigénique du bacille Calmette-Guérin? Ce qui pourrait plaider en faveur de cette dernière hypothèse, c'est le fait que, *dans les ganglions mésentériques,* ces lésions n'ont été rencontrées par nous que chez les enfants vaccinés. En effet, si l'on se rapporte à des études histologiques semblables, faites chez des enfants du même âge non vaccinés, mais ayant succombé à des maladies identiques à celles qui ont déterminé la mort chez nos sujets, ces lésions ne se retrouvent plus ;

5° Il semble, en conséquence, que le processus d'élimination du B. C. G. ayant traversé la muqueuse intestinale se trouve déjà achevé au bout de trois semaines.

BIBLIOGRAPHIE

1. Lignières (J.) : « A propos de la prémunition dans les milieux non infectés de tuberculose » (*Bull. Acad. de Médecine,* 1928, v. 94, n° 18).
2. Lignières (J.) : « A propos de la vaccination par le B. C. G. » (*Bull. Acad. de Méd.,* 1928, n° 20).
3. Von Pirquet (C.) : « Stellungsnahme zur Calmette-schen Impfung. » (*Wiener Med. Woch.,* 1928, p. 727).
4. Nobel (E.) und Solé (A.) : « Experimentelle Studien über Tuberkulose-immunisierung nach Calmette » (*Monatschrift f. Kinderheilkunde,* 1927, v. 37, p. 408).

5. Nobel (E.) : « Zu Prof. Calmette's Vortrag über Schutzimpfung mit B. C. G. » (*Wiener Med. Woch.*, 1928, p. 727).
6. Nobel (E.) : « Tuberkuloseimmunisierung u. Schutzimpfung nach Calmette mit B. C. G. » (*Wiener Klin. Woch.*, 1928, v. 41, p. 798).
7. Chiari (H.) : Ueber pathologische Veränderungen mit Calmette-schen Bacillus geimpften Tieren » (*Monatschr. f. Kinderheilk.*, 1927, v. 37, p. 402).
8. Loewenstein (E.) : « Kritischer Beitrag zur Calmette-schen Schutzimpfung » (*Wiener Klin. Woch.*, 1926, v. 39, p. 293).
9. Calmette (A.) : « Sur la vaccination préventive des enfants nouveau-nés par le B. C. G. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1927, v. 41, p. 254).
10. Calmette-Guérin : « La prévention des nouveau-nés contre la tuberculose par le B. C. G. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1928, v. 42, p. 1).
11. Calmette (A.) : « Schutzimpfung der Neugeboren gegen Tuberkulose mit dem B. C. G. » (*Zeitschr. f. Tuberk.*, 1928, v. 50, p. 120).
12. Kuhn (I.) : « Evolution des lésions produites par les bacilles biliés B. C. G. chez les cobayes » (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, v. 97, p. 1520).
13. Leuret (E.) et Caussimont (J.) : « Action des bacilles biliés de Calmette chez le cobaye par voie intrapéritonéale et intraveineuse » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, p. 952).
14. Leuret (E.) et Caussimont (J.) : « Lésions consécutives à l'injection sous-cutanée de B. C. G. au cobaye » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, p. 1537).
15. Coulaud (E.) : « Effets des injections intraveineuses massives de bacilles biliés B. C. G. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1927, v. 41, p. 289).
16. Kraus (R.) : « Zur Frage der preventiven Impfung gegen Tuberkulose nach Calmette » (*Zeitschr. f. Immunitätforsch.*, 1927, v. 51, p. 230).
17. Id. : « Ziele und Wege der Immunitätsforschung zur Bekämpfung der Tuberkulose » (*Beitr. zur Klinik der Tuberkul.*, 1928, v. 68, p. 686).
18. Korschun (S.) : « Die Wirkung des Tuberkelbacillen B. C. G. auf den Organismus des Meerschweinchen » (Ref. *Zeitschr. f. Tuberkul.*, 1928, v. 50, p. 75).
19. Okell et Parish : « Vaccination of guinea pigs against tuberculosis » (*Brist. Journ. of exper. Pathol.*, 1928, p. 34).
20. Cantacuzène (J.) : « Essais de vaccination des nouveau-nés contre la tuberculose par le B. C. G. en Roumanie » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1927, v. 41, p. 274).
21. Id. : « Vaccination des nouveau-nés en Roumanie par le B. C. G. » (*Bull. de l'Office intern. de l'Hyg. pub.*, mai 1928).
22. Ciuca (M.) et Balteanu (I.) : *Considerațiuni generale asupra vaccinări antimicrobiene. Vaccinarea anti-tuberculoasă.* Edit. Casei Scoalelor, Bucuresti, 1928.
23. Girod et Debarge : « A propos du vaccin B. C. G. Vérification anatomique chez un nouveau-né vacciné » (*Rev. Méd. de la Suisse romande*, 1927, p. 1001).
24. Jakhnis : « La prémunition des nouveau-nés par le B. C. G. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1927, v. 41, p. 1045).
25. Nasta (M.) et Veber (T.) : « Vaccinarea antituberculoasă a noilor născuți prin vaccinul Calmette (B. C. G.) » (*Revista Stintelor Medicale*, 1928, n° 12, p.).
26. Ciuca (M.), Franke (M.) et Rosenthal (Z.) : « Au sujet de la vaccination B. C. G. et de son innocuité » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1929, v. 43, n° 2, p. 168).
27. Jolly (J.) : *Traité technique d'Hématologie*, article : Ganglions lymphatiques. A. Maloine, Paris, 1923.
28. Maximow (A.) : « Bindegewebe und Blutbildende Gewebe » (*Handbuch der Mikroskop. Anatomie des Menschen*, v. II, prem. partie, J. Springer, Berlin, 1927).

29. Bezançon (F.) et Labbé (Marcel) : « Maladies du système lymphatique » dans le *Nouveau Traité de Médecine et de Thérapeutique* Brouardel et Gilbert. (J.-B. Baillière et fils, Paris, 1911).
30. Labbé (M.) : *Le ganglion lymphatique dans les infections aiguës*, thèse de Paris, 1898.

LÉGENDES DES FIGURES

Fig. 1. — *Coupe d'un ganglion mésentérique* montrant deux vaisseaux sanguins dont la paroi est très épaissie. Noter également un certain degré d'œdème dans les sinus. (Zeiss. Obj. 8. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 2. — *Même coupe que celle de la figure 1*, mais à un plus fort grossissement. On voit les deux vaisseaux, dont la paroi est très épaissie et hyalinisée. (Zeiss. Obj. 20. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 3. — *Autre ganglion mésentérique* dans lequel on constate l'énorme prolifération du tissu conjonctif, formant des travées très épaissies et presque hyalinisées, occupant toute l'étendue de l'organe. (Zeiss. Obj. 8. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 4. — *Coupe de ganglion mésentérique* montrant une énorme quantité des cellules à noyaux pâles (endothéliales), dont l'augmentation indique une prolifération très marquée de ces éléments. (Zeiss. Obj. 20. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 5. — On remarque sur cette coupe les sinus très élargis et remplis d'un exsudat homogène (œdème). (Zeiss. Obj. 8. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 6. — *Ganglion mésentérique.* Le centre du champ microscopique est occupé par les reliquats d'un follicule sclérosé. (Zeiss. Obj. 8. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 7. — *Coupe de ganglion mésentérique* pour montrer l'énorme prolifération des cellules endothéliales. (Zeiss. Obj. 20. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 8. — *Coupe de ganglion mésentérique* montrant d'épaisses travées de tissu conjonctif et la prolifération des fibrilles du réticulum. (Zeiss. Obj. 20. Oc. Huyghens 4.)

Fig. 9. — *Coupe de ganglion mésentérique* montrant des sinus corticaux et médullaires très élargis. Dans l'intérieur des sinus, on voit un exsudat homogène (œdème). (Zeiss. Obj. 8. Oc. Huyghens 4.)

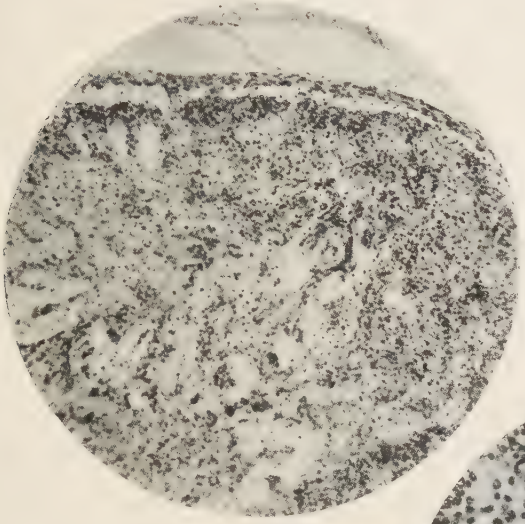


FIG. 1.

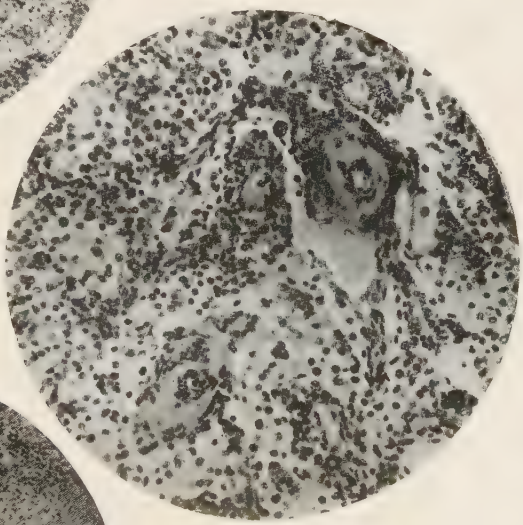


FIG. 2.

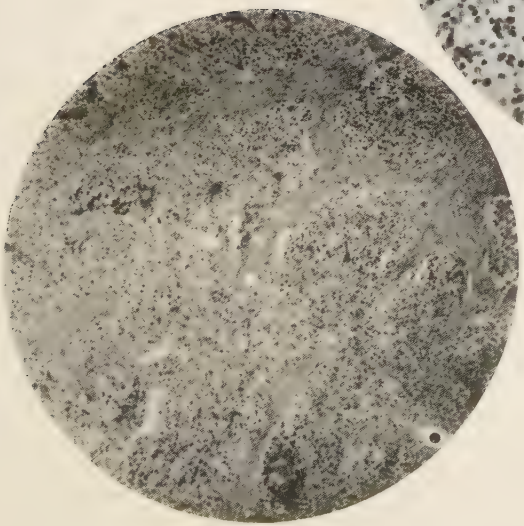


FIG. 3.

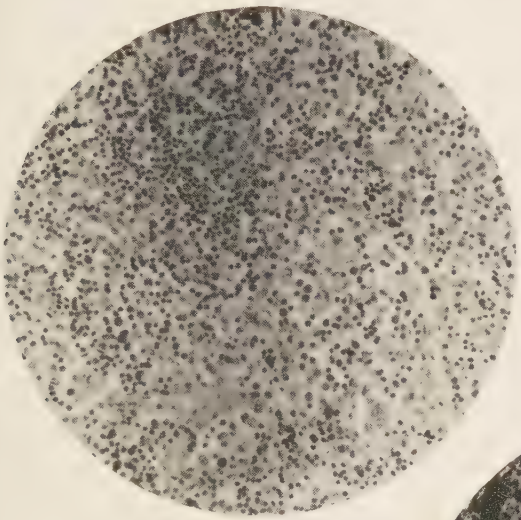


Fig. 4.

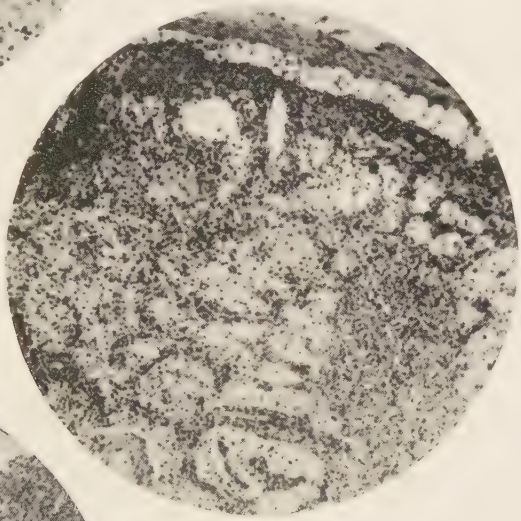


Fig. 5.

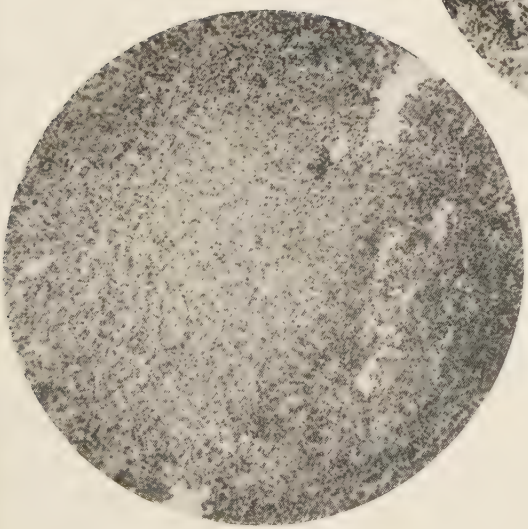


Fig. 6.

Fig. 7.

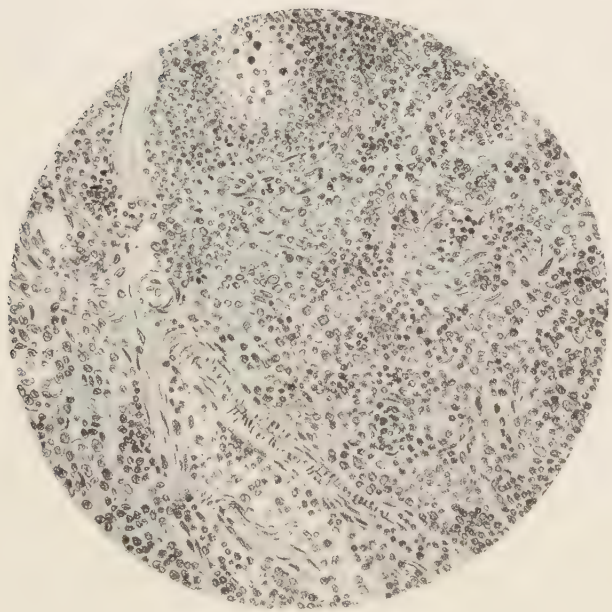


Fig. 8.

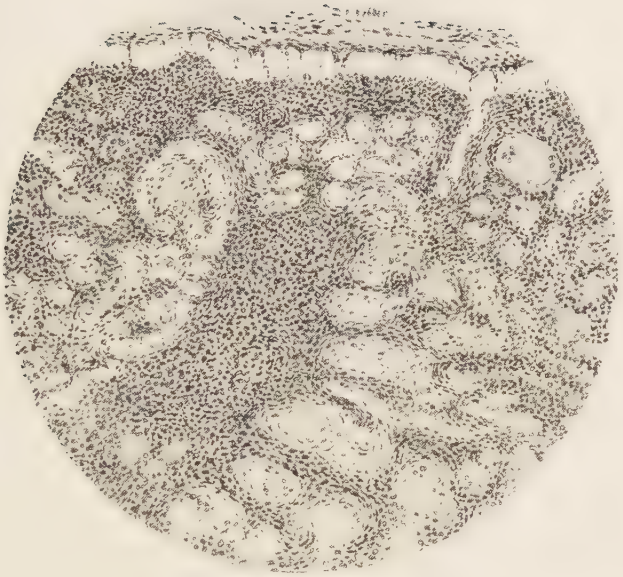


Fig. 9.

LA GLYCOGÉNIE DU SARCOME DE PEYTON ROUS

par

E.-C. CRACIUN

(Travail de l'Institut du Cancer de la Faculté de Médecine de Paris. Directeur : Professeur G. Roussy.)

Dans un travail antérieur, nous avons eu l'occasion d'étudier le sarcome du rat blanc de type Jensen, au double point de vue de son histogénèse et de sa glycogénie. Nous avons pu constater au cours de cette étude qu'il existait une certaine corrélation entre les deux processus, car la tumeur de Jensen ne présente de glycogénie constante qu'au niveau d'une zone de cellules périnécrotiques. Les cellules glycogéniques forment une couche, continue ou presque, située autour de la nécrose, entre le tissu mort et le tissu intact. Ce phénomène apparaît nettement dans certaines conditions de greffe. En effet, c'est seulement la greffe d'un gros fragment unique qui permet de localiser facilement les différentes couches de cellules par rapport à la nécrose. Au contraire, dans les tumeurs obtenues par la greffe de plusieurs petits fragments, cette localisation n'est pas possible ; chaque fragment contribue avec un centre nécrotique et une couronne de cellules actives, et le tout prend l'aspect d'une mosaïque très irrégulière, où les zones très altérées avoisinent d'autres qui ne le sont pas. Ceci rend assez malaisée la lecture des préparations. Un foyer de glycogénie trouvé, par exemple, sur une coupe passant par le pôle d'un centre nécrotique, peut en imposer pour un foyer de glycogénie situé en parenchyme non altéré. Nous avons noté aussi que la glycogénie est parfois irréversible parce qu'il existe en même temps des

lésions graves des cellules, qui sont en voie de nécrose ou de nécrobiose. Mais les cellules glycogéniques, quoiqu'elles soient placées près de la nécrose, n'offrent pas toujours des altérations ; il y en a qui ne paraissent aucunement lésées et dont la seule anomalie morphologique est leur glycogénie. Il s'agit, dans ce cas, d'une glycogénie simple, peut-être réversible.

La tumeur de Jensen contient aussi des cellules glycogéniques isolées, au milieu du parenchyme tumoral non altéré et qui est dépourvu de glycogénie normalement ; mais ces cellules ne forment qu'une minorité peu importante. De plus, elles paraissent provenir de la zone périnécrotique, dont elles se sont éloignées par migration active.

Nous nous sommes proposé ensuite d'étudier la glycogénie du sarcome de la poule de type Rous. Ce sont ces recherches qui font l'objet de ce travail.

Une souche très active de tumeur de Rous est conservée par passages successifs à l'Institut du Cancer de Paris ; la néoplasie atteint rapidement des proportions énormes et tue après quatre à six semaines. La tumeur est souvent transformée en une poche kystique, qui contient un liquide sanguinolent ou verdâtre, mais toujours filant, avec quelques fragments libres ; ceux-ci sont jaunes et secs, ou, au contraire, donnent l'impression de franges de synoviale. Les parties nécrosées peuvent donc subir une double évolution, soit vers le séquestre sec, soit vers la fonte myxomateuse, avec hémorragies secondaires.

Une dizaine de ces tumeurs d'âges différents, ont été traitées d'après les méthodes de Brault et de Best. Les coupes colorées à l'iode, ou bien au carmin amoniacal, présentent un assez grand nombre de cellules glycogéniques. Mais les conditions où apparaît cette glycogénie sont beaucoup moins simples que pour la tumeur de Jensen. Il y a d'abord un plus grand nombre de cellules glycogéniques isolées ; la glycogénie en foyer est donc relativement moins importante. Ensuite, nous n'avons pas réussi à obtenir, avec la souche de Rous, une tumeur de développement aussi homogène que celle qu'on obtient si facilement avec la souche de Jensen. Même en greffant un seul fragment, la tumeur qui en résulte a un aspect très polymorphe, avec une intrication intime de zones nécrotiques et de zones actives. Cela fait que les cellules glycogéniques isolées sont parfois situées au milieu d'une région très altérée, d'autres fois en parenchyme apparemment sain. La signification de leur glycogénie n'en est que plus compliquée. Ceci paraît être dû à l'extrême malignité de la tumeur de Rous,

dont la marche envahissante et la nécrose ont une évolution à la fois plus rapide et moins ordonnée que le sarcome du rat.

Etudions successivement la glycogénie en foyer, puis la glycogénie des éléments isolés.

A. — On peut constater, dans cette tumeur aussi, *une glycogénie périnécrotique* ; celle-ci est naturellement plus facile à étudier *autour des séquestres* qu'au niveau des zones en voie de liquéfaction. La partie morte se présente comme une croûte jaunâtre, ratatinée, en partie détachée. Sa base est fortement infiltrée par des leucocytes dont les noyaux picnotiques s'ajoutent au fond très dense et très coloré du tissu envahi par la nécrose. Il y a ensuite, vers la périphérie saine, un petit espace clair, et, plus loin, une couronne épaisse de cellules tumorales, dont la plupart sont remplies de glycogène. Cet aspect rappelle de très près la disposition des trois premières zones des tumeurs « simples » de Jensen. Le glycogène est contenu soit dans des cellules uninucléées, soit dans des syncytiums multinucléés ; ceux-ci peuvent être bourrés de granulations rouges même après la disparition de leurs noyaux, qui laissent autant de ronds vides. Le glycogène est disposé soit en petites granulations distinctes, soit en gouttelettes qui se superposent plus ou moins. Les noyaux normalement colorés sont assez fréquents ; il y en a qui sont hyperchromiques, d'autres au contraire en voie de lyse. Il existe aussi des gouttes de glycogène à l'intérieur des leucocytes ou dans les espaces intercellulaires. Les phénomènes de cytolyse qui accompagnent la glycogénie périnécrotique sont donc plus intenses dans le sarcome de Rous qu'ils ne le sont dans le sarcome de Jensen ; de plus, les syncitiums sont plus fréquents aussi dans la première de ces tumeurs.

Comme il a été indiqué plus haut, il y a une deuxième espèce de nécrose qui envahit les parties centrales de la tumeur de Rous ; la première était une nécrose sèche, celle-ci produit *des masses filantes visqueuses*, qui sont très virulentes, d'après Borrel. Dans certaines régions des préparations, les tissus ont subi une sorte d'infiltration œdémateuse considérable. Les cellules, très agrandies, sont logées à deux ou à trois dans les mailles d'un tissu conjonctif, lui-même très altéré. Le noyau est souvent tout à fait excentrique ; il y a des grands blocs de glycogène, vivement coloré en rouge, situés tout autour d'un corps cellulaire boursouflé, rempli d'une substance amorphe, sans affinités chromatiques. Cette substance ne donne pas les réactions de la mucine ;

elle prend une teinte bleuâtre au Giemsa. Avec leur gros nucléole unique et leurs blocs colorés à la périphérie d'un cytoplasme arrondi et amorphe, ces éléments rappellent des cellules nerveuses en chromatolyse.

Une des planches qui accompagnent le mémoire de Rous, représente une image analogue à celle qui a été indiquée plus haut et qui correspond aux figures 2 et 4 de ce travail. Pour Peyton Rous, il s'agirait d'éléments géants, provenant de cellules musculaires. Nous avons examiné de nombreuses préparations du muscle pectoral infiltré par la tumeur ; les coupes longitudinales ou transversales ne nous ont jamais montré des images qui auraient indiqué l'origine musculaire de ces éléments géants. D'autre part, on les rencontre assez fréquemment au milieu du parenchyme tumoral, où elles sont facilement reconnaissables grâce à leur grande taille et à leur nucléole unique. De ce fait, il est évident qu'il s'agit tout simplement de cellules sarcomateuses géantes, en dégénérescence myxoïde ; cet aspect est fréquemment rencontré, en effet, dans les tumeurs qui subissent un type d'altération semblable.

La dégénérescence myxoïde paraît être encore plus étendue avec la souche japonaise de cette tumeur, d'après Pentimalli.

Les fibres collagènes sont très élargies, hyalines ; les liquides fixateurs produisent de grandes rétractions; il s'agit donc d'un tissu très hydraté. Certains éléments se colorent très mal. Il y a aussi des restes anucléés, mais sans glycogène non plus, et qui paraissent provenir de cellules éclatées sous la pression du liquide qu'elles avaient accumulé. L'infiltration œdémateuse va en diminuant aux alentours, où l'on trouve des éléments sarcomateux ordinaires. Borrel a constaté le haut pouvoir infectant des masses filantes, qu'il appelle « *substance spécifique* » du sarcome de Rous. Cette substance est neutrophile sur les frottis colorés au Giemsa. Sur des coupes favorables, la substance amorphe des grandes cellules boursouflées prend une teinte violacée ; il est intéressant de voir que la production de cette substance mucineuse, très virulente, est accompagnée par une autre substance hydrocarbonée, qui est le glycogène.

B. — Les éléments isolés peuvent donner une forte réaction à l'iode et montrer du glycogène sous forme de blocs, de gouttes et de granulations. Ce sont, le plus souvent, des cellules de grande taille, arrondies ou polyédriques ; leur noyau est vésiculeux avec un peu de chromatine poussiéreuse et avec un seul nucléole,

très apparent. Ce noyau est parfois excentrique ; dans ce cas, toute la cellule paraît tuméfiée et le glycogène forme des blocs. D'autres fois, les lésions sont encore plus marquées. Il y a des vacuoles dans le cytoplasme, avec des inclusions variables ; le contour de la cellule est irrégulier, le noyau est pycnotique ou disparu, ou encore réduit en plusieurs fragments ronds de chromatine. Ces éléments, quand ils contiennent du glycogène, en sont moins remplis que les cellules, qui ne montrent pas d'altérations si évidentes. Mais la cellule peut être indemne de toute lésion apparente et son glycogène se présente alors comme une très fine poussière. Ces éléments géants, uninucléés, avoisinent parfois des capillaires perméables ; les troubles circulatoires, très évidents pour la glycogénie du sarcome de Jensen, ne peuvent être invoqués ici. Les petites cellules sarcomateuses contiennent, elles aussi, du glycogène, mais moins souvent que les cellules de grande taille. En accord avec Jordan, ce fait paraît indiquer une relation entre l'augmentation du rapport nucléoplasmique et la glycogénie.

Les grands fibrocytes de la tumeur de Rous, si bien décrits par Roskin, sont parfois remplis de glycogène dont la présence met en évidence des prolongements très étendus et flexueux. Le noyau, centré par un gros nucléole, est attaché à cette traînée rouge, ramifiée. Les leucocytes glycogéniques, si fréquents au niveau de la nécrose sèche, sont pratiquement absents du reste de la tumeur.

Ces éléments glycogéniques peuvent être rassemblés, à peu de distance de certaines zones de raréfaction qui paraissent subir la fonte pseudo-muqueuse. D'autres fois, il y a de l'œdème interstitiel ; ou encore des groupes de grands fibrocytes, colorés en rouge, qui croisent en écharpe le fond aglycogénique d'un tissu qu'ils paraissent envahir.

Dans les régions où les fibres du pectoral sont dissociées et détruites par la tumeur, le glycogène tumoral n'est pas plus abondant que dans les régions où la tumeur infiltre un tissu aglycogénique. La résorption et la phagocytose ne jouent donc pas de rôle. On voit les fibres musculaires, partiellement colorées en rouge, séparées par des grands éléments à noyau vésiculeux, ovale ou rond, avec un seul nucléole. Le cytoplasme est finement aréolaire et strié, de structure homogène, sans enclaves. Par leur taille et leur morphologie, ces éléments correspondent au monocyte décrit par Carrel, dans les cultures *in vitro* de la tumeur de Rous ; ce fait est en concordance avec leur pouvoir d'infiltrer et

de détruire le muscle voisin *in vivo*. A ce niveau, la tumeur est formée de cellules très vigoureuses et très actives ; il n'y a pas d'altération balonnisante ou autre. Il y a aussi relativement moins de glycogène que dans les régions situées plus à l'intérieur de la tumeur, mais qui sont aussi vouées à une nécrobiose plus ou moins proche.

La grande masse de la tumeur ne présente pas de réaction positive pour le glycogène ; ce fait est facile à constater dans les régions à polymorphie extrême et dans celles qui sont occupées seulement par des fibroblastes de taille moyenne et d'orientation assez régulière.

Interprétation. — Les caractères morphologiques et les conditions générales de la glycogénie du sarcome de Rous rappellent, *grosso modo*, celles de la tumeur de Jensen. Ces ressemblances nous permettront de rappeler brièvement les considérations déjà énoncées dans notre mémoire précédent.

L'apparition du glycogène dans quelques éléments seulement traduit un état réactionnel, un processus de glycophanérose. Parfois la cellule est en nécrobiose ; le fait est assez net pour les foyers périnécrotiques et pour certaines cellules éparses ; il traduit une glycogénie irréversible.

Mais, d'autres fois, il n'y a pas de lésions cellulaires ou tissulaires concomitantes. Il s'agit d'une glycogénie simple, peut-être réversible, dont les conditions pathogéniques sont assez obscures. On ne saurait invoquer un état d'hyperfonction, puisque la glycogénie est plus fréquente au centre de la tumeur que sur les bords, où elle agit très activement sur les tissus voisins. La glycogénie n'est pas non plus en relation avec la virulence tumorale : l'autolyse aseptique supprime rapidement la première et n'influence la seconde qu'au bout de plusieurs jours. Il est vrai que le glycogène est présent dans les cellules qui paraissent élaborer la substance dite spécifique par Borrel ; mais il est extrêmement probable que ces éléments ne sont pas les seuls capables d'assurer des passages en série. La glycogénie apparaît dans des cellules dépourvues de lésions aussi bien que dans des cellules en voie de nécrobiose sèche ou liquéfiante.

Pour la tumeur de Rous aussi, la glycogénie constitue donc un fait cellulaire, individuel, sous la dépendance d'un certain état métabolique. Celui-ci paraît être régi par des conditions un peu plus complexes dans la tumeur de Rous. En effet, les éléments épars glycogéniques sont plus fréquents ici que dans la tumeur de

Jensen; leur présence au milieu d'un parenchyme aglycogénique paraît traduire une viciation de métabolisme qui est moins sous l'influence de causes extérieures — apparemment égales pour tout le tissu environnant — que sous l'influence de certaines causes endogènes. Les éléments de grande taille sont aussi ceux qui présentent le plus souvent des lésions; ils correspondent également aux grands monocytes de Carrel et contiennent le virus. On pourrait donc envisager la totalité des éléments géants comme subissant une évolution parallèle au point de vue de la glycogénie, de la production de substance « spécifique » et peut-être de la multiplication du virus. Mais, à notre avis, il n'y a pas des caractères morphologiques suffisants pour admettre une évolution strictement orientée dans ce sens. Le polymorphisme de cette tumeur s'y oppose. De plus, les éléments de la périphérie, moins glycogéniques et moins riches en substance spécifique, transmettent tout aussi bien la néoplasie que les régions centrales, en partie ou totalement nécrosées.

L'interprétation de la glycogénie se trouve aux prises ici avec une histogénèse et avec des conditions métaboliques très particulières.

Conclusions. — Le sarcome de Rous, néoplasie d'un type nosographique spécial, mais d'une grande malignité biologique, présente une glycogénie assez abondante et très irrégulière. En dehors de la glycogénie irréversible, périnécrotique ou non, qui est un phénomène banal de nécrobiose, il existe une glycogénie éparse des éléments typiques, non altérés, de la tumeur, avec participation des cellules géantes uni et multinucléées et des fibrocytes.

On rencontre des cellules glycogéniques au niveau de la nécrose sèche aussi bien qu'au niveau de la nécrose liquéfiante, myxomateuse.

Il ne paraît pas y avoir des relations entre la glycogénie et la virulence de cette tumeur.

La glycogénie semble due à un processus de glycophanérose, qui est le plus souvent du type irréversible; mais les conditions extérieures amenant un ralentissement de nutrition (ischémie, nécrose, raréfaction) ne sont certainement pas les seules qui agissent.

BIBLIOGRAPHIE

Borrel. — « Cytologie du sarcome de Peyton Rous et substance spécifique » (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, **94**, 500).

Burger (Max). — « Untersuchungen über das Hühnersarkom » (*Zschr. Krebsforschung*, 1914, **14**, 526).

Carrel (A.). — « La malignité des cultures pures de monocytes du sarcome de Rous » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, **91**, 1067). — « Comparaison des macrophages normaux et des macrophages transformés en cellules malignes » (*C. R. Soc. Biol.*, 1925, **92**, 584).

Craciun (E.-C.). — « Contribution à l'étude de la cytologie et de la glycogénie du sarcome de Jensen » (*Bulletin du Cancer*, 1929, **18**, 1-63).

Fischer (Albert). — « Cellules sarcomateuses et macrophages » (*C. R. Soc. Biol*, 1925, **92**, 392).

Fujinami und Inamoto. — « Ueber Geschwülsten bei japanischen Haushühnern » (*Zschr. Krebsforsch.*, 1914, **14**, 117).

Ladwig (A.). — « Ein Beitrag zur Sarkomatose des Haushuhnes » (*Zschr. Krebsforsch.*, 1923, **19**, 337).

Pauliucu-Burla (D.). — « Glycogenul ca mijloc de investigatie medico-legală. Cernăuți » (*Glasul Bucovinei*, 1925).

Pentimalli (F.). — « Ueber die Geswülsten bei Hühnern » (*Zschr. Krebsforsch.*, 1916, **15**, 111-152).

Peyron (A.). — « Sur les tumeurs infectieuses des oiseaux » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, **90**, 575).

Roskin (G.). — « Cytologie des Hühnersarkoms » (*Virchow's Arch.*, 1926, **261**, 919-931).

Roskin (G.). — « Histophysiologische Studien an Geschwülstzellen » (*Zschr. Krebsforsch.*, 1925, **22**, 472-479).

Rous (P.). — « A transmissible avian neoplasm : Sarcoma of the common fowl » (*Journ. Exper. med.*, 1910, **12**, 696).

Rouss and Murphy. — « On the causation by filterable agents of three distinct chicken tumors » (*Journ. Exper. med.*, 1914, **19**, 52-69).

Roussy (G.) et Craciun (E.-C.). — « Glycogénie du sarcome de Rous » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, **98**, 1720).

Roussy (G.) et Craciun (E.-C.). — « Variations cytologiques du sarcome de Jensen d'après la méthode de greffe » ; — « Glycogénie du sarcome de Jensen » ; — « Signification de la glycogénie du sarcome de Jensen, Glycophanérose » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, **99**, 1486, 1488, 1633).

Vranceanu. — « Cercetări asupra glycogenezei tumorilor » (*Bull. Soc. med. Naturalistes*, Jassy, 1911, **25**, 47-54).

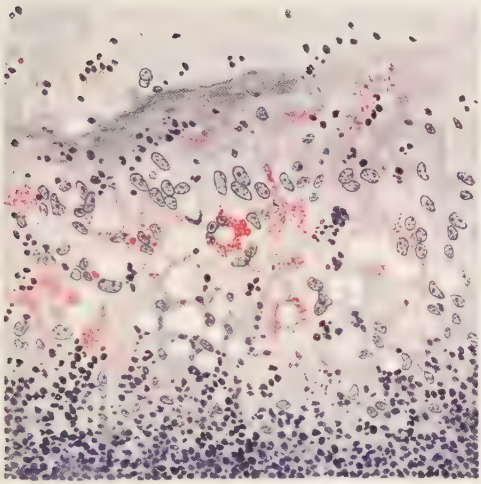
LÉGENDE DE LA PLANCHE

Fig. 1. — Zone glycogénique périnécrotique. Le glycogène est contenu par des éléments mono ou plurinucléés; quelques leucocytes en contiennent aussi. Persistance du glycogène comme granulations libres et à l'intérieur des cellules qui ont perdu leur noyau. Cette zone de cellules en nécrobiose glycogénique est limitée, d'un côté par des cellules en nécrose pycnotique, de l'autre côté par une région en dégénérescence myxoïde. Coupes à la celloïdine, coloration glychémalun-carmin de Best.

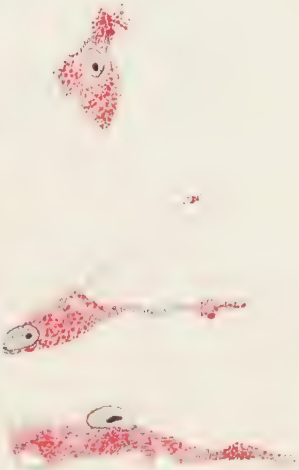
Fig. 2. — Dégénérescence myxoïde. Glycogénie des petits et des grands éléments; le cytoplasme, parfois très agrandi, de ces derniers, est rempli d'une matière amorphe qui ne donne pas les réactions de la mucine. Le noyau et le glycogène sont poussés à la périphérie. Trame conjonctive hyaline, faiblement acidophile, très hydratée.

Fig. 3. — Cellules de grande taille, glycogéniques, situées au milieu d'un parenchyme tumoral aglycogénique, sans lésions apparentes.

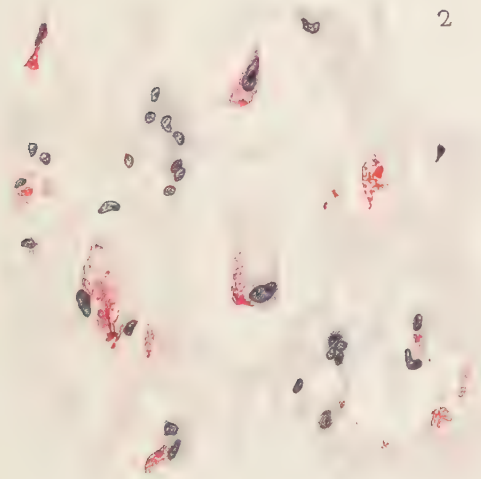
Fig. 4. — Cellules glycogéniques placées en pleine zone myxoïde. Noyau périphérique, substance amorphe, vacuoles.



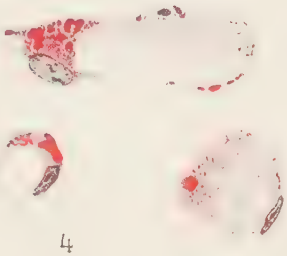
1



3



2



4

RECHERCHES CYTOLOGIQUES DANS LA RAGE EXPÉRIMENTALE

par

A. TUPA

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest.)

Les travaux concernant les lésions produites par la rage dans le système nerveux sont très nombreux et se rapportent soit aux altérations du tissu nerveux en général, soit à celles de la cellule nerveuse en particulier.

On connaît ainsi les altérations présentées par les corps chromatophiles de Nissl, les neurofibrilles ou le noyau et le protoplasma au cours de la rage spontanée ou expérimentale.

La chromatolyse périphérique ou centrale, la chromatolyse totale [**1**], l'hyperchromatose cellulaire ont été signalées par tous ceux qui se sont occupés des altérations que peuvent présenter les corps de Nissl au cours de cette maladie.

En ce qui concerne les altérations neurofibrillaires, on a insisté sur leur épaississement [**5**] [**13**], dû à la fusion des neurofibrilles primaires et secondaires, fait qu'on a constaté aussi dans d'autres processus physiologiques ou pathologiques : l'hibernation, le froid, l'inanition prolongée, l'intoxication par la morphine ou la strychnine, le tétanos [**2**], la pellagre [**9**], etc.

Parallèlement aux modifications des corps de Nissl et des neurofibrilles, les auteurs ont décrit les changements d'aspect du noyau, une accumulation de sa substance chromatique à la périphérie, de même qu'une augmentation du nombre de ses granulations [**10**].

Quant aux lésions du cytoplasma, on a mis en évidence sa vacuolisation, qui peut aller jusqu'à la destruction complète du corps cellulaire [**14**].

Or, la cellule nerveuse n'est pas caractérisée seulement par sa

forme particulière, par son noyau, par les corps de Nissl et les neurofibrilles. Elle est caractérisée aussi par la présence dans son cytoplasma d'un appareil mitochondrial bien défini et bien représenté, ainsi que par un appareil réticulaire interne de Golgi.

On sait combien sont ardues les discussions que suscitent les problèmes soulevés ces temps derniers par les auteurs qui cherchent à fixer le rôle joué par ces deux constituants cellulaires dans les phénomènes de sécrétion ou bien dans la production des réserves énergétiques nécessaires à la vie et à l'accomplissement des fonctions spécifiques.

Les recherches si importantes faites sur la cellule végétale et animale ont établi que des phénomènes d'une haute signification dans le fonctionnement de la vie cellulaire sont dévolues à ces deux facteurs.

Quelques-unes de ces recherches démontrent la transformation partielle ou totale des mitochondries en produits de sécrétion ; d'autres parlent de leur action catalytique [**15**] ou de leur action de surface.

D'autre part, des travaux plus récents encore, cherchent à prouver le rôle important que prend l'appareil de Golgi dans la formation des produits d'élaboration de la cellule. Pour les uns, ce réticule est l'endroit où se produisent les ferments nécessaires à la nutrition et au développement de la cellule, et l'on admet pour les cellules végétales une localisation des diastases dans les vacuoles. Pour d'autres, il participe directement à la sécrétion. Guilliermond dit que son « assimilation au vacuome des cellules végétales permet d'affirmer son rôle actif comme accumulateur de produits du métabolisme cellulaire, etc... », et plus loin : « que l'on ignore encore s'il se borne à accumuler ces produits ou s'il joue un rôle dans leur élaboration, comme l'admettait Renaut pour la sécrétion rhagiocrine et comme paraissent le vérifier les travaux de Parat et Painlevé » [**17**].

Mais, malgré le nombre important des travaux concernant ces questions, l'accord n'est pas encore établi sur le rôle et la part prise par ces deux facteurs dans le processus d'élaboration de la cellule, d'autant plus pour la cellule nerveuse, dont les modifications structurales qui accompagnent son fonctionnement sont entourées de beaucoup plus de doute et d'obscurité.

Ainsi, je crois que ne sont pas dépourvues d'intérêt les recherches entreprises pour étudier les modifications du chondriome et de l'appareil interne de Golgi dans la cellule nerveuse des lapins infectés avec le virus rabique.

Pour cette étude, j'ai choisi le lapin comme étant l'animal le plus commode à manipuler. J'ai employé dans ces recherches douze lapins infectés avec du virus fixe, que j'ai préféré à celui des rues parce qu'il tue plus rapidement les animaux, et les lésions produites dans leur système nerveux n'arrivent pas à ce degré d'intensité qu'on trouve habituellement dans la rage spontanée.

Babès, se rapportant aux lésions constatables par les techniques habituelles, avait remarqué cette différence en disant que « les lésions ganglionnaires déterminées par le virus fixe ne sont pas comparables à celles que produit le virus des rues » et que « chez les lapins infectés par le virus fixe on ne trouve d'habitude aucune lésion dans les cellules nerveuses, tandis que les animaux infectés par un virus d'une intensité moindre (virus des rues) présentent la série entière des altérations » [**11**].

Les lésions cellulaires avancées et intenses ne sont pas propices pour l'étude que nous nous sommes proposé de faire parce que, à un stade avancé d'altération, la cellule présente une modification du chondriome et de l'appareil de Golgi tellement grande, qu'elle est impropre à servir de base aux interprétations multiples qu'on pourrait faire sur sa nature et sur sa signification. D'autre part, les mitonchondries et l'appareil de Golgi sont des formations d'une délicatesse extrême, et sont parmi les premières qui s'altèrent lorsque la cellule est atteinte dans sa vitalité. Les éléments favorables à nos études sont ceux qui présentent seulement une légère atteinte, et, par conséquent, des modifications ne s'éloignant pas trop de l'aspect normal. Ces modifications pourraient être interprétées comme des formes dues à l'hyper ou à l'hypofonctionnement cellulaire à la suite d'une irritation initiale provoquée par le virus fixe sur des éléments qui n'ont pas eu le temps nécessaire d'arriver à la destruction complète, les animaux ayant succombé avant que ces lésions se soient accentuées.

D'autre part, le fait relaté par Golgi que, dans les infections avec le virus des rues, les altérations des cellules nerveuses sont disposées en foyers, se trouve aussi dans les infections avec le virus fixe.

Ici, de même, nous avons rencontré à côté des régions plus ou moins étendues formées de cellules altérées, d'autres régions où les cellules offrent un aspect normal. De plus, on trouve fréquemment des cellules isolées qui montrent des altérations structurales et qui sont entourées par d'autres cellules intactes. Cette circonstance est très favorable parce qu'elle nous permet de trouver

presque à chaque instant, sur le même champ microscopique, des cellules normales qui servent « d'image-type » et auxquelles nous rapportons les modifications rencontrées pendant l'examen des coupes.

Méthode. — Les lapins inoculés dans le cerveau avec 0,5 centimètres cubes d'une émulsion de moelle rabique (virus fixe) dans du sérum physiologique en proportion d'un vingtième ont été sacrifiés entre le sixième et le septième jour pour obtenir du matériel tout à fait frais.

Pour la mise en évidence du chondriome, on débite la moelle en petits fragments ne dépassant jamais 2 millimètres d'épaisseur qu'on immerge dans le liquide fixateur suivant [**18**] :

Sol. bichromate de potassium 3 %..	80 parties.
Formol de commerce.....	20 —
Nitrate d'urane	1 gramme.

Dans ce mélange, préparé au moment de s'en servir, les pièces séjournent trois à quatre jours. Parce que le liquide noircit rapidement, il est recommandable de le renouveler deux fois dans les premières vingt-quatre heures, quand il commence à se troubler. Pour éviter le séjour des pièces dans un fixateur déjà altéré, il faut le changer tous les jours jusqu'à la fin de la fixation (trois à quatre jours). La fixation se fait à l'obscurité.

Après un lavage à fond dans l'eau courante pendant au moins vingt-quatre heures, on soumet les pièces à la déshydratation, qui doit s'accomplir autant que possible à l'abri de la lumière.

L'éclaircissement est fait dans l'alcool amylique et l'inclusion dans la paraffine.

Sections minces de 2-3 μ.

Avant la coloration, il est indispensable de blanchir les sections en les traitant par le permanganate de potassium et ensuite par l'acide oxalique [**19**].

On colore par l'hématoxyline de Regaud après mordançage préalable par l'alun de fer ammoniacal.

L'appareil réticulaire interne de Golgi a été mis en évidence par l'imprégnation argentique en suivant la méthode de Da Fano [**20**] au nitrate de cobalt, ou celle de Cajal [**7**] au nitrate d'urane. Les résultats obtenus avec ces deux méthodes sont superposables.

Quant aux boutons de Held-Auerbach, — des terminaisons nerveuses péricellulaires, — ils ont été obtenus par la méthode mito-

chondriale ci-dessus décrite et par les imprégnations argentiques d'après le procédé suivant de Cajal [**8**] :

1° Fixation des pièces minces (2 à 3 millimètres d'épaisseur) dans une solution à 15 % de formol, pendant six à douze heures ;

2° Lavage parfait à l'eau courante pendant six heures ou plus ;

3° Immersion pendant vingt-quatre heures dans l'alcool ammoniacal (cinq gouttes d'ammoniaque pour 50 centimètres cubes d'alcool à 96°) ;

4° Séchage des pièces dans du papier filtre et immersion dans une solution de nitrate d'argent à 1 gr. 50 % pendant cinq jours à l'étuve ;

5° Lavage très rapide dans l'eau distillée ;

6° Réduction vingt-quatre heures dans :

Acide pyrogallique ou hydroquinone.....	1 gr.
Formol à 40 %.....	5-10 cc.
Eau distillée.....	100 cc.

7° Lavage rapide, déshydratation, inclusion dans la paraffine.

J'ai insisté un peu longuement sur les détails techniques concernant le chondriome parce que cet appareil est assez difficile à mettre en évidence dans les cellules nerveuses des mammifères pour que des auteurs comme Duesberg en soient venus à nier leur existence dans la cellule adulte.

Aussi le professeur Alfredo Corti écrit : « Per quanto riguarda il condrioma sappiamo quanto sia difficile lo studio di tale differenziazione del citoplasma delle cellule nervose, tanto que si è potuto negarne fin l'esistenza negli elementi adulti ; anche se ne era ampiamente discusso il comportamento e il significato negli elementi embrionali, sopratuto in rapporto ale neurofibrille (Mewes, Duesberg, Marcora). Nelle cellule adulte la difficoltà di poter rilevare dati completi e sicuri sono veramente notevoli, sia per la reale scarsità delle differenziazioni in parola, sia ancora per la struttura que sovente puo essere di ostacolo a ben sceverare e interpretare le varie sue particolarita [**21**]. »

Le chondriome. — Les cellules nerveuses de la moelle épinière d'un lapin normal présentent un chondriome bien développé, formé de petits bâtonnets droits, minces, d'un calibre égal, sans aucune orientation définie dans le protoplasma et s'insinuant dans les espaces libres que laissent entre eux les corps de Nissl [**4**].

Ces bâtonnets se trouvent aussi autour du noyau et à la péri-

phérie de la cellule, en respectant toutefois une étroite bande protoplasmique au voisinage immédiat de la membrane cellulaire.

A l'endroit du cône d'émergence du cylindraxe, ainsi qu'aux points d'origine des prolongements protoplasmiques, les chondriocontes, orientés à la file, les uns après les autres, pénètrent à l'intérieur de ces prolongements et se distribuent tout le long de ceux-ci jusqu'à leur terminaison.

Les petites formations en forme de point ne sont que les images des sections transversales des bâtonnets et sont peu nombreuses dans une même cellule.

Le noyau est représenté par un espace clair et rond, entouré de mitochondries, dans lequel on distingue une ou deux petites mottes chromatiniennes à peine colorées en gris pâle. Le nucléole, au contraire, prend intensément la coloration noire et apparaît comme une petite sphère à l'intérieur de l'espace nucléaire. Les corps de Nissl qui se colorent en gris pâle par l'hématoxyline ferrique, après fixation par le bichromate-formol-urane, apparaissent comme des ombres à l'intérieur de la cellule.

A la surface externe de la membrane cellulaire et en contact intime avec cette dernière, on trouve des petites formations arrondies, formées par le groupement des fines granulations, étroitement pressées les unes contre les autres, qui se colorent fortement avec l'hématoxyline et qui se disposent tout autour de la cellule et de ses prolongements en dessinant exactement leurs contours. Elles représentent les terminaisons péricellulaires des ramifications cylindraxiles destinées à établir la connexion entre les neurones chez les animaux adultes. Ces formations, vues d'abord par Auerbach et dénommées *boutons terminaux* (Endfüsse), décrites ensuite par Held sous le nom *d'amas étoilés* et par Cajal sous celui de *massues terminales*, s'appliquent exactement sur la membrane des cellules et de leurs prolongements protoplasmiques « comme des vrilles à suçoirs de certaines plantes grimpantes contre les murs » [**16**]. Le cylindraxe en est dépourvu. Elles s'altèrent facilement par les fixateurs ordinaires, qui les font éclater.

Dans nos préparations, chaque massue terminale est représentée par un de ces groupements de fines granulations siégeant à la périphérie de la cellule et qui résistent bien à la décoloration.

Que représentent ces granulations des massues terminales ? Elles ne sont probablement pas autre chose que le chondriome, qui couvre à lui seul presque la totalité de la surface de ces for-

mations, et qui ne laisse libre que très peu d'espace pour le réseau neurofibrillaire, qui prend part aussi à sa constitution intime. La massue terminale n'est, en somme, qu'une masse mitochondriale plus condensée, en opposition avec l'appareil mitochondrial du corps cellulaire répandu et disséminé dans le cytoplasma.

Le fait que les mitochondries de ces formations sont si nombreuses par rapport à l'étroit espace qui les contient semble indiquer l'intensité des phénomènes énergétiques qui doivent avoir lieu à leur niveau et le rôle important qu'elles jouent, probablement, dans la transmission de l'influx nerveux d'un neurone à un autre.

Cette hypothèse est suggérée aussi par les phénomènes qui se passent au niveau des « boules terminales » consécutives aux lésions de l'axone. Dans ce cas, le renflement qui se produit au niveau du bout central de celui-ci, c'est-à-dire à l'endroit où surviennent des phénomènes de réparation, accompagnés d'une activité protoplasmique intense, présente un développement très marqué du chondriome.

Il est possible que cette hypertrophie de l'appareil mitochondrial ne soit qu'une des formes par laquelle s'exprime la suractivité fonctionnelle d'une partie seulement ou de la cellule tout entière.

Si on considère maintenant l'appareil mitochondrial des cellules nerveuses de la moelle des lapins inoculés avec du virus fixe, on remarque une série de modifications, soit dans l'aspect, soit dans l'arrangement des mitochondries, qui changent plus ou moins l'image qu'on est habitué à considérer comme étant celle d'une cellule fonctionnant normalement. Une des premières modifications consiste en l'allongement des bâtonnets, forme de passage vers un état où les modifications sont plus accentuées.

Presque en même temps que l'allongement des chondriocontes, on observe aussi les changements survenus dans la direction du corps mitochondrial. Celui-ci commence à présenter des courbures dans un seul ou plusieurs plans et on obtient ainsi des formes en *C* allant quelquefois jusqu'à des formes presque annulaires, des formes en *S* ou des formes irégulières.

Dans ce premier stade, le calibre des bâtonnets ne présente pas des modifications appréciables.

Exceptionnellement, on rencontre des modifications semblables parmi les mitochondries d'une cellule normale, mais dans ce cas

les modifications n'affectent qu'un nombre excessivement réduit de mitochondries contenues dans une cellule, tandis que chez les animaux rabiques le nombre de cellules ayant subi ces modifications mitochondriales est très important et l'appareil mitochondrial dans sa totalité est profondément touché. Cette variation dans l'orientation du corps mitochondrial est une suite des altérations concomitantes des corps de Nissl ou de l'appareil de Golgi, qui commencent à leur tour à changer de composition et d'aspect. A un examen minutieux, on peut, en effet, se rendre compte des changements d'aspects survenus dans les images floues des corps de Nissl et on observe alors que c'est autour de ces images que se disposent les mitochondries ainsi modifiées.

Un autre aspect que peut prendre l'appareil mitochondrial et que nous avons rencontré souvent est celui d'un réseau formé de longs filaments minces et sinueux qui s'entrecroisent sous différents angles. Cet aspect réticulaire peut être très varié. Quelquefois, les mailles du réseau sont incomplètes et on a l'impression qu'il s'agit de mitochondries ramifiées ; d'autres fois, le réticule apparaît formé de grandes mailles irrégulières et continues.

Les filaments qui composent ce réseau sont d'habitude assez minces et conservent tout le long de leur trajet le même calibre.

Nous avons souvent remarqué aussi aux points nodaux du réseau une intrication de deux à trois petits bâtonnets incurvés qui contribuent à compliquer davantage l'aspect de l'ensemble de l'appareil mitochondrial.

Dans un stade plus avancé d'altération cellulaire, le diamètre même des chondriocontes commence à varier. On observe ainsi des dilatations siégeant plus fréquemment à une de leurs extrémités, constituant des formes en virgule, ou, plus rarement, des dilatations placées sur le trajet de leur corps, réalisant la forme en chapelet. Lorsque la partie centrale du gonflement mitochondrial commence à perdre la colorabilité, on arrive à des formations en raquette ou annulaires.

On remarque très souvent des mitochondries gonflées, en forme de petits bâtonnets trapus et gros, dont le centre commence à pâlir et offrant dans l'ensemble l'aspect des formes « en navette » ou cocobacillaires, décrites par Manouélian et Viala comme étant celles de l'agent pathogène de la rage [**22**].

Les auteurs qui se sont occupés du chondriome tiennent pour artificielles ces formes globuleuses et épaissies des mitochondries. Ils admettent comme réelles seulement les formes minces, attribuant les autres aux altérations survenues après la mort ou

provoquées par des fixations imparfaites. Pour ce motif, j'ai longtemps hésité à considérer ces formations comme des mitochondries altérées par l'action du virus fixe. Des arguments convaincants m'obligent pourtant de les présenter comme telles ; à savoir :

1° Les préparations examinées proviennent d'animaux sacrifiés par la saignée totale (section du cœur) et dont le système nerveux a été fixé à l'état vivant.

2° Les fragments, étant très minces (2 millimètres d'épaisseur maxima), ont pu être pénétrés entièrement et dans un très court délai par le fixateur. D'autre part, les coupes examinées ont été toujours les plus voisines de la périphérie, tout en éliminant celles tout à fait superficielles, traumatisées éventuellement par les manipulations.

3° On rencontre sur la même préparation des cellules contenant des mitochondries gonflées, en forme de raquette ou « en navette », à côté d'autres cellules dont le chondriome est à peu près intact ou présentant des formes filamenteuses minces, isolées ou bien anastomosées en réseau. Ce fait rappelle l'observation de Golgi que les altérations des cellules nerveuses dans la moelle des animaux enragés ont une disposition en foyers.

Si les altérations décrites par nous étaient dues aux fixations défectueuses ou aux modifications survenues après la mort, le tableau de ces formations serait le même dans toutes les régions de la coupe examinée.

Pour ces motifs, je crois que les modifications ci-dessus décrites sont attribuées à l'action du virus fixe.

Tandis que dans les cellules avec appareil mitochondrial très peu modifié le fond protoplasmique est transparent et que les images des corps de Nissl s'observent assez bien pour qu'on puisse affirmer leur présence, au contraire, dans les cellules où cet appareil présente les modifications décrites, le fond protoplasmique est plus foncé et la silhouette des corps de Nissl ne peut plus être évidenciée. On a l'impression que l'appareil chromatophile aurait subi une sorte de dissolution et ses constituants seraient diffusés dans le protoplasma, le rendant plus opaque et plus foncé.

En même temps, il est à remarquer que les mitochondries perdent aussi leur pouvoir de colorabilité et que, dans les cellules plus altérées, leur forme et leur présence même se distinguent

difficilement. C'est à ce moment-là que le corps cellulaire est tuméfié et le noyau change de position vers la périphérie de la cellule.

En ce qui concerne les « massues terminales » dans la rage expérimentale chez le lapin, on constate une augmentation considérable de leur volume, qui devient le double ou le triple de ce qu'il était normalement.

Cette hypertrophie des terminaisons péricellulaires du cylindraxe se voit non seulement sur les préparations obtenues par les méthodes d'imprégnation argentique qui mettent en évidence ces formations, mais aussi par les méthodes mitochondriales. Dans ce dernier cas, on voit que l'hypertophie est due à l'augmentation du nombre et du volume des granulations qui entrent dans leur composition.

L'hypertrophie n'atteint pas obligatoirement toutes les massues terminales autour d'une cellule; elle peut en atteindre isolément une ou plusieurs, et sur des régions différentes de la surface cellulaire. La figure 14 représente, vue de face, une massue terminale hypertrophiée, entourée d'autres formations pareilles qu'on peut considérer de volume normal. Dans la figure 15, on voit une hypertrophie moins accentuée et répandue à toute une région de la surface cellulaire.

L'appareil de Golgi. — Si on étudie maintenant l'appareil réticulaire interne de Golgi dans les cellules nerveuses de la moelle de lapin et son comportement dans l'infection avec le virus fixe, on voit qu'il suit de près les modifications survenues dans le chondriome. Normalement, ces cellules ont un appareil de Golgi formé de gros cordons d'apparence massive formant un réseau lâche, à mailles circulaires, occupant presque tout le cytoplasma, contrairement à ce qu'on rencontre chez les invertébrés, où il prend une disposition polaire. Ce réticule envoie des expansions qui se terminent librement à l'origine de grosses dendrites; quelquefois elles pénètrent même à leur intérieur.

Les cordons qui entrent dans la constitution de ce réseau ont un diamètre plus ou moins inégal et présentent des irrégularités, en conservant pourtant dans une vue d'ensemble une impression de gracilité et de délicatesse.

Cet appareil montre un tout autre aspect dans les cellules lésées par le virus fixe. Les cordons présentent de distance en distance des portions gonflées et vésiculées; les filaments qui unissent ces formations anormales sont interrompues par ci par là et les cor-

dons se trouvent ainsi fragmentés en un nombre variable de petits tronçons inégaux et irréguliers.

En même temps que le changement produit dans sa forme, le réticule de l'appareil de Golgi présente aussi une modification dans sa colorabilité. La partie centrale de ses parties gonflées commence à perdre la propriété de se colorer intensivement par les méthodes argentiques et laisse voir quelquefois dans son intérieur un ou plusieurs petits précipités granulaires colorés en noir foncé. Dans d'autres cellules, la fragmentation du cordon réticulaire s'accomplit avant que sa dilatation ampulaire soit arrivée à un stade avancé, et dans ce cas presque tout le corps cellulaire est rempli de fragments teintés en noir par le nitrate d'argent. A un examen rapide des préparations, les cellules sont indiquées par des amas de grandes granulations irrégulières et noires qui tranchent vivement sur le fond jaune pâle du tissu nerveux environnant.

La migration du noyau vers la membrane cellulaire paraît être causée par la pression que l'hypertrophie de cet appareil exercerait sur lui; elle serait donc une migration passive.

Il est probable que les variations de courbure et les ondulations présentées par les filaments mitochondriaux sont causés aussi par les changements que comporte l'hypertrophie du réticule interne de Golgi, jointes aux modifications dues à la fragmentation du corps de Nissl.

Il nous a semblé que les altérations de l'appareil de Golgi sont plus précoces et intéressent un nombre de cellules plus grand que celles du chondriome, qui sont moins prononcées et affectent un nombre de cellules relativement plus faible.

L'appareil de Golgi paraît être très sensible aux variations physico-chimiques qui accompagnent les différents moments fonctionnels du neurone, soit à l'état normal, soit à l'état pathologique. Cette sensibilité est probablement plus accentuée que celle du chondriome.

Dans son *Traité de la Rage*, Babès mentionne « l'apparition de fissures sous forme d'arcades à la périphérie des cellules » et affirme que « leur signification nous échappe » [**12**]. Il est très probable que ces « fissures sous forme d'arcades » correspondent aux cordons de l'appareil réticulaire interne qui, lorsqu'on ne les imprègne pas en noir par l'argent ou l'osmium, restent incolores et représentent leur image négative sur un fond protoplasmique un peu foncé.

Nous avons eu l'occasion d'examiner aussi les ganglions rachidiens des lapins au cours de cette infection.

Chez le lapin normal, l'appareil de Golgi dans les cellules nerveuses des ganglions rachidiens offrent deux aspects différents :

1° L'aspect d'un réticule complexe, dense, formé de cordons épais, bien colorés en noir par le nitrate d'argent, occupant seulement une partie ou la totalité du cytoplasma représenté par un fond coloré en jaune foncé. Sur des coupes au niveau du noyau cellulaire, il apparaît comme un réseau annulaire ou en croissant, qui coiffe le noyau ou l'encercle partiellement. Si la section est à un niveau supérieur ou inférieur à celui du noyau, l'appareil de Golgi est représenté par un réseau qui couvre toute la surface cellulaire, où il fait complètement défaut.

2° Cet aspect contraste fortement avec celui que possèdent d'autres cellules ganglionnaires et qui est représenté par un réticule lâche de cordons minces et fragmentés, moins vivement colorable en noir par l'argent sur un fond protoplasmique transparent et d'une nuance jaune très pâle. Ce réseau occupe tout le cytoplasma autour du noyau, car nous n'avons jamais vu des formations en croissant ou des régions cellulaires ne contenant pas l'appareil de Golgi.

Nous n'avons jamais rencontré des formes de passage entre ces deux sortes de réticules et nous inclinons à croire que ces deux aspects si opposés appartiennent à deux types cellulaires et ne correspondent pas à des étapes fonctionnelles différentes d'une même catégorie de cellules.

Les altérations de l'appareil de Golgi dans les neurones ganglionnaires des lapins enragés dépassent de beaucoup celles que nous avons rencontrées dans la moelle.

Dans les ganglions, les lésions sont plus manifestes, plus étendues et plus fréquentes. C'est ici qu'on rencontre assez souvent ces « nodules miliaires » provenant de la prolifération des cellules satellites capsulaires et qu'on ne voit pas dans la moelle des lapins infectés avec du virus fixe.

Ces altérations ont un vif retentissement sur l'appareil de Golgi des cellules lésées, qui en présentent alors, à côté des modifications décrites pour les cellules nerveuses de la moelle, encore d'autres qui marquent un état plus accentué de désintégration cellulaire.

On y rencontre aussi une hypertrophie irrégulière et inégale des cordons; des renflements qui tendent à les diviser en tron-

çons et des petits fragments de volume variable, intensément colorés en noir, ressortant vivement sur le fond protoplasmique, d'un jaune d'autant plus foncé que les altérations sont plus avancées.

En plus de cela, on y rencontre des cellules où l'appareil de Golgi est totalement transformé en un amas de granulations étroitement serrées les unes contre les autres, au point d'offrir l'apparence d'une masse compacte et noire, occupant toute la surface de la cellule. A un examen sommaire, ces cellules attirent vivement l'attention par la coloration noire de leur corps, bourré entièrement de granulations; on n'y distingue plus la trace du noyau.

Ces granulations semblent avoir deux origines : elles proviennent, en partie, par précipitation du contenu des dilatations ampulaires que présente à un moment donné l'appareil de Golgi, et en partie des reliquats de parois qui ont constitué les cordons du réticule.

Une cellule arrivée à ce stade avancé d'altération de son appareil de Golgi est une cellule destinée à disparaître.

Ce sont les petites cellules pâles, les cellules capsulaires encerclant les neurones ganglionnaires, qui se chargent d'accomplir ce travail, par un phénomène de digestion intracellulaire (neuronophagie).

Normalement, ces cellules montrent dans leur cytoplasma, par le procédé Da Fano pour l'appareil réticulaire interne, un petit bâtonnet incurvé qui coiffe le noyau vers le pôle central de la cellule et représente l'appareil de Golgi.

Chez les lapins rabiques, les cellules capsulaires commencent à proliférer lorsque la cellule nerveuse qu'elles entourent est lésée. On voit alors, par les techniques habituelles de fixation et de coloration, une augmentation de substance chromatique dans les noyaux de ces cellules et des caryocinèses fréquentes qui témoignent de leur prolifération intense.

La multiplication des cellules capsulaires entourant un neurone gravement altéré aboutit à la formation de « nodules miliaires » qui remplacent la cellule nerveuse disparue. On remarque alors sur des préparations qui démontrent l'appareil réticulaire interne que ces cellules satellites, dont le cytoplasma était exempt de toute formation autre que l'appareil de Golgi, s'hypertrophient et montrent dans leur corps un nombre variable de granulations brunes, exactement de même aspect morphologique et tinctorial que les granulations contenues dans la cellule nerveuse. Elles

occupent le pôle central des cellules et sont distinctes de l'appareil de Golgi, siégeant toujours au même endroit. Ces granulations proviennent de l'incorporation de granulations remplissant les cellules nerveuses arrivées au stade de désintégration. Nous n'avons jamais rencontré de pareilles cellules satellites à cytoplasma contenant des granulations, que dans les foyers d'où les cellules nerveuses avaient disparu. Ce fait témoigne de leur action phagocytaire.

En résumé, nous avons vu que le chondriome et l'appareil de Golgi, bien représentés dans les neurones de la moelle du lapin et des ganglions rachidiens, souffrent, au cours de l'infection expérimentale par la rage, une série de modifications morphologiques qui aboutissent à leur disparition complète lorsque la vie de la cellule est gravement atteinte.

Ces deux appareils, qui sont les éléments figurés dans lesquels et autour desquels s'accomplissent des phénomènes indispensables à la vie et à l'activité spécifique des cellules, réagissent vivement lorsque le neurone se trouve dans l'obligation de répondre à un facteur irritatif.

Cette réponse se manifeste par l'hypertrophie de leur masse, qui entraîne à son tour une modification, dans le même sens, de leur forme.

Tant que le facteur irritatif ne prolonge pas son action au delà de la limite où les phénomènes nécessaires à la vie puissent s'accomplir, ces appareils montrent un aspect d'ensemble qui ne s'éloigne pas trop (dans les grandes lignes) de celui qui représente habituellement l'état normal et qui est caractérisé par l'augmentation de la longueur de leurs parties constituantes, par la multiplication de leurs plis et courbures, ou par l'étendue et la richesse des ramifications du réseau qu'elles forment.

Au delà de cette limite, lorsque la cellule n'a plus la force de réagir contre le facteur irritatif qui dépasse ses moyens de défense, les deux constituants cellulaires commencent à présenter des formes de désintégration caractérisée par des gonflements, des fragmentations, perte de colorabilité et dissolution graduelle dans la masse cytoplasmique.

Les variations dans l'aspect de tous les éléments qui caractérisent la cellule ne sont que l'expression morphologique des modifications de nature physico-chimique inconnue dont la cellule est l'objet et traduisent un stade de son fonctionnement normal ou pathologique. Elles expliquent aussi les différents phénomènes passifs qui se passent dans ces cellules au cours de certains états

pathologiques, comme la migration du noyau vers la périphérie, due aux actions mécaniques exercées sur lui par l'hypertrophie énorme de l'appareil de Golgi, ou comme le changement de direction et de courbure de mitochondries qui aboutissent à des formations annulaires à la suite de la fragmentation des corps de Nissl ou de l'appareil réticulaire interne et surtout à la suite du gonflement de ce dernier.

Nous voyons donc qu'en dehors des phénomènes physico-chimiques qui modifient la composition et l'aspect des différents constituants de la cellule, il intervient encore une série d'interactions mécaniques auxquelles sont redevables une partie des changements de leur morphologie et de leur topographie.

La nature intime et le déterminisme de ces modifications nous sont complètement inconnus, mais nous pouvons en juger la valeur en nous reportant aux phénomènes qu'ils déclanchent dans le système nerveux moteur et sensitif des animaux malades.

Ces phénomènes dépassent en grandeur et en étendue de beaucoup les petites variations morphologiques qu'on rencontre dans les éléments du système nerveux, qui est le grand réservoir de virus et en est le plus touché.

BIBLIOGRAPHIE

1. Marinesco. — « L'histophysiologie de la cellule nerveuse » (*Revue générale des Sciences pures et appliquées*, 30 mai 1897).
2. Marinesco. — « Lésions des neurofibrilles produites par la toxine tétanique » (*C. R. Soc. Biol.*, 9 juill. 1904).
3. Marinesco. — « Lésions des neurofibrilles dans certains états pathologiques » (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LVIII, p. 536).
4. Marinesco et Tupa. — « Recherches histopathologiques sur les mitochondries » (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LXXXVI, p. 292).
5. Cajal (R.) et Dalmaco (Garcia). — « Las lesiones del reticulo de las cellula nerviosas en la rabia » (*Trab. del Lab. Invest. Biol.*, III, 1904, p. 213).
6. Ramon y Cajal. — *Histologie du système nerveux*, trad. du Dr Azoulay, 1909, A. Maloine, Paris, vol. I, p. 225.
7. Ramon y Cajal. — « Algunas variaciones fisiologicas y patologicas del aparato reticular de Golgi » (*Trab. del Lab. Invest. Biol.*, 1915).
8. Ramon y Cajal. — « Les formules du procédé au nitrate d'argent réduit et ses effets sur les facteurs intégrants des neurones » (*Trab. del Lab. Invest. Biol.*, 1910).
9. Parhon et Papinian. — « Note sur les altérations de neurofibrilles dans la pellagre » (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LVIII, p. 360).
10. Babès (V.). — *Traité de la Rage*, 1912, Baillière, Paris.
11. Babès (V.). — *Traité de la Rage*, p. 189.

12. Babès (V.). — *Traité de la Rage*, p. 200.
13. Franca (C.). — « La rage chez le renard » (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LVIII, p. 652).
14. Van Gehuchten et Nelis. — « Les lésions histologiques de la rage chez les animaux et chez l'homme » (*Bull. de l'Académie Méd.*, Bruxelles, 1900, XXIV, n° 1).
15. Nageotte (J.). — *L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie*, 1922, F. Alcan, Paris.
16. Nageotte (J.). — *La structure fine du système nerveux*, 1905, p. 28.
17. Guilliermond. — « Recherches sur l'appareil de Golgi dans les cellules végétales et sur ses relations avec le vacuome » (*Arch. d'Anat. Micr.*, 1927, t. XXIII, p. 86.)
18. Tupa (A.). — « Sur l'emploi du nitrate d'urane dans la fixation des mitochondries » (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. LXXXV, p. 848).
19. Langeron. — *Précis de Microscopie*, 1921, Masson, p. 500.
20. Da Fano. — « Méthodes pour la démonstration de l'appareil interne de Golgi » (*Bull. d'Histologie appliquée*, etc., 1925, t. II, p. 216).
21. Corti (A.). — « Studi di morfologia cellulare (lacunoma, condrioma, idiosoma) » (*Richerche di Morfologia*, 1924, vol. IV, p. 317).
22. Manouelian et Viala. — « Encephalitozoon rabiei », parasite de la rage » (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1924, t. XXXVIII, p. 258).

EXPLICATION DES PLANCHES

Figures 1 à 13, cellules nerveuses de la moelle du lapin; fixation formol-bichromate-urane; coloration à l'hématoxyline ferrique d'après Regaud.

Fig. 1. — Cellule nerveuse de la corne antérieure ; lapin normal. Mitochondries. Corps de Nissl à peine visibles. Immersion 1/12. (Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6 : dessins.)

Fig. 2. — Cellule nerveuse de la corne antérieure; lapin rabique. Mitochondries courbées et ondulées. A la périphérie, de gros points noirs qui représentent les mitochondries des massues terminales. Immersion 1/12.

Fig. 3. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Mitochondries dont le calibre commence à présenter des irrégularités; quelques formes ovalaires. Immersion 1/12.

Fig. 4 et 5. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Mitochondries ayant des formes gonflées, ovalaires, en raquette. Immersion 1/12.

Fig. 6. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Mitochondries formant réseau.

Fig. 7. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Mitochondries présentant un commencement de formation de réseau. Microphoto. Appareil Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 8. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Mitochondries présentant un début de gonflement. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 9, 10, 11. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Mitochondries formant un réseau. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12. (Fig. 10-11, Immersion. Apochr. Zeiss 1,5 mm.)

Fig. 12 et 13. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Mitochondries présentant des formes globuleuses, en raquette, etc. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 14 et 15. — Massues terminales hypertrophiques autour des cellules nerveuses de la moelle du lapin rabique. Vue de face. Méthode à l'argent réduit (Cajal). Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 16. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin normal. Appareil de Golgi. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Obj. 40 (Zeiss).

Fig. 17. — La même à l'immersion 1/12.

Fig. 18. — Cellule nerveuse de la moelle du lapin rabique. Appareil de Gogli altéré. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Obj. 40 (Zeiss).

Fig. 19, 20, 21 et 22. — Cellules nerveuses de la moelle du lapin rabique. Appareil de Gogli altéré. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Fig. 10-11, immersion apochr. Zeiss 1,5 mm.)

Fig. 23. — Ganglion rachidien du lapin normal. Cellules nerveuses avec appareil de Golgi. Vue d'ensemble. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Obj. 20 (Zeiss).

Fig. 24. — Cellules nerveuses du ganglion rachidien. Lapin normal. En haut, trois cellules présentant un appareil Golgi de type 1; en bas, une cellule avec appareil Golgi, type 2. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Obj. 40.

Fig. 25. — Cellule du ganglion rachidien de lapin normal. Appareil de Golgi, type 2, à l'immersion. Microphoto. App. Phocu (Zeiss).

Fig. 26 et 27. — Cellules du ganglion rachidien de lapin normal. Appareil de Golgi, type 1. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 28 et 29. — Cellules du ganglion rachidien. Lapin rabique. Epaississement léger et commencement de gonflement de certains points du réseau de Golgi des cellules nerveuses. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 30 et 31. — Lapin rabique. Cellule nerveuse du ganglion rachidien. Appareil de Golgi fragmenté remplissant à peu près la totalité de la surface cellulaire. Méthode de Da Fano. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 32. — Lapin rabique. Cellule nerveuse du ganglion rachidien. Appareil de Golgi transformé dans un amas de granulations répandues dans toute la cellule. Méthode de Da Fano. App. Phocu (Zeiss). Immersion 1/12.

Fig. 33. — Lapin rabique. Cellule nerveuse du ganglion rachidien. Appareil de Golgi transformé en granulations formant une couronne périphérique. Le centre cellulaire avec des granulations poussiéreuses plus pâles. Méthode de Da Fano. Microphoto. Immersion 1/12.

Fig. 34 et 35. — Lapin rabique. Cellule nerveuse du ganglion rachidien. Appareils de Golgi faisant transition entre l'état de réseau qui commence à gonfler, et l'état de fragmentation et transformation granulaire de ce cordon. Méthode de Da Fano. Microphoto. Obj. 40 (Zeiss).

Fig. 36. — Lapin rabique. Cellule nerveuse du ganglion rachidien. Appareil de Golgi transformé dans une agglomération serrée de granulations noires, remplissant toute la cellule; à côté, cellules dont l'appareil de Golgi forme un réseau d'apparence normale. Microphoto. App. Phocu (Zeiss). Obj. 20.

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN

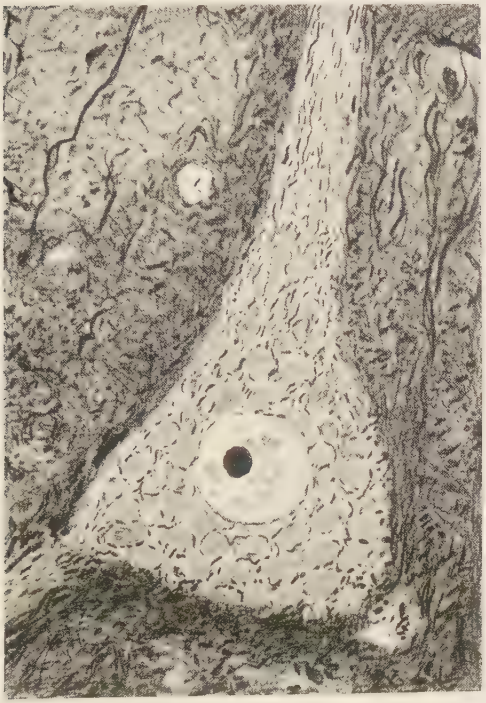


Fig. 1.

Fig. 3.

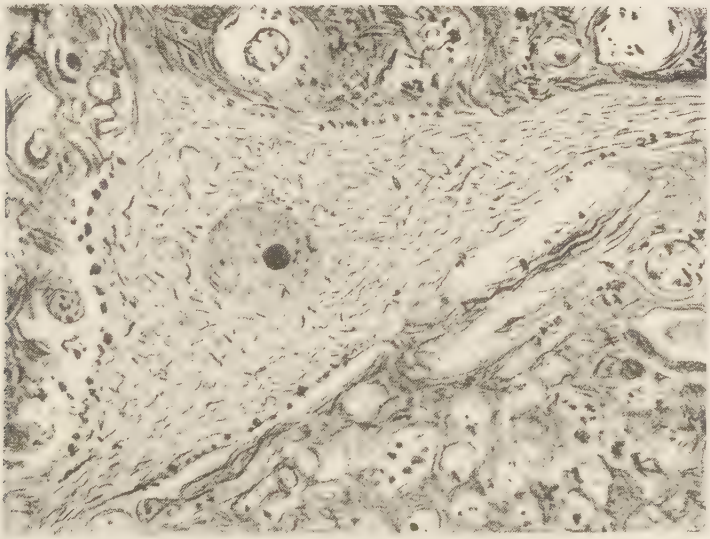


Fig. 2.

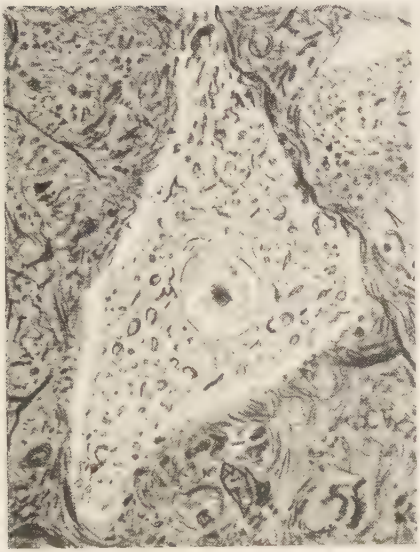


Fig. 4.

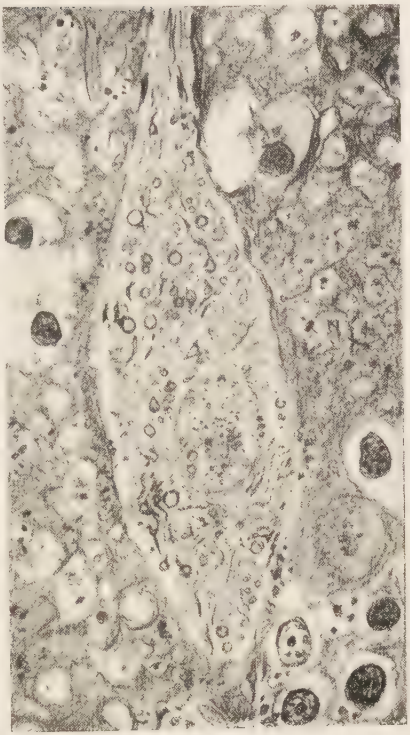


Fig. 5

Fig. 6.

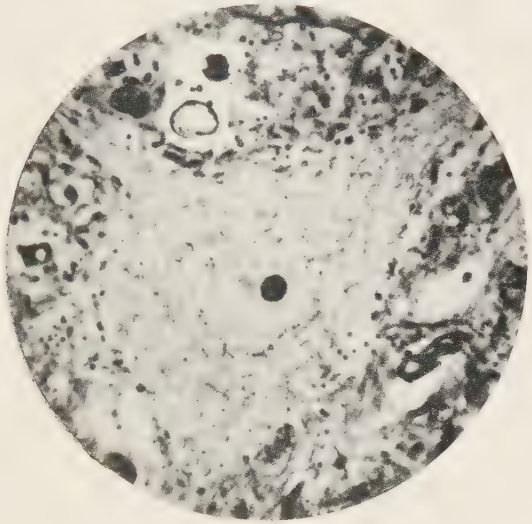


Fig. 7.

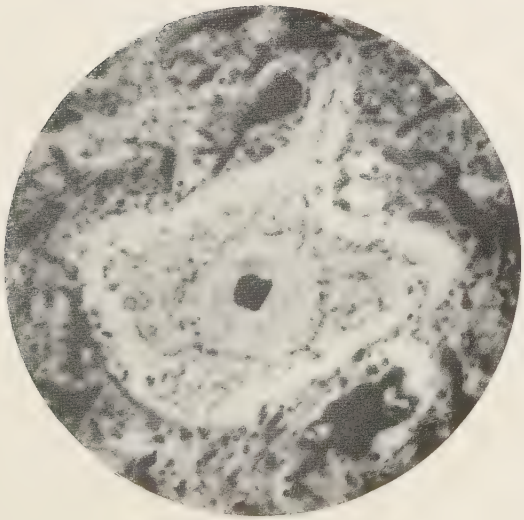


Fig. 8.

MASSON & Cie, Editeurs

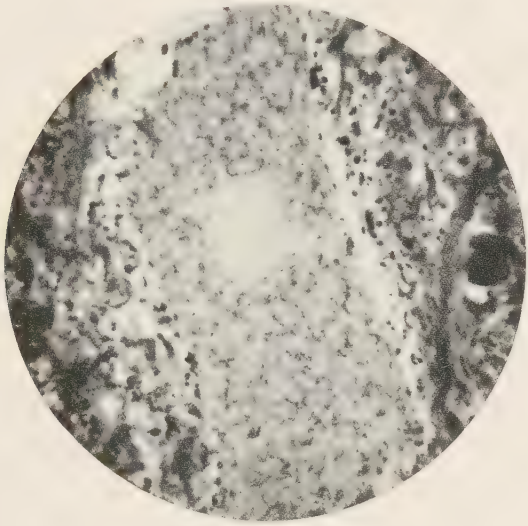


Fig. 9.

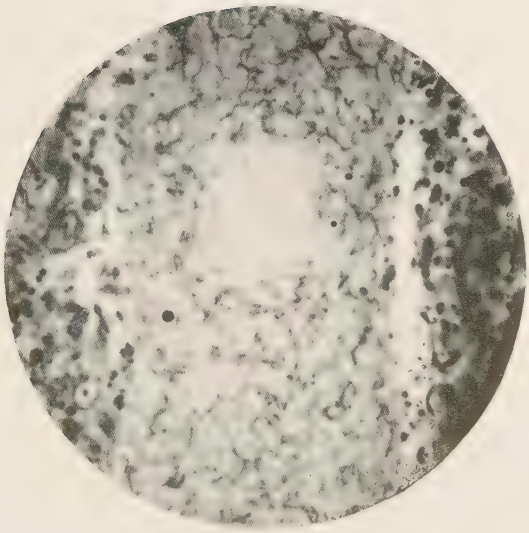


Fig. 10.

MASSON & Cie, Editeurs

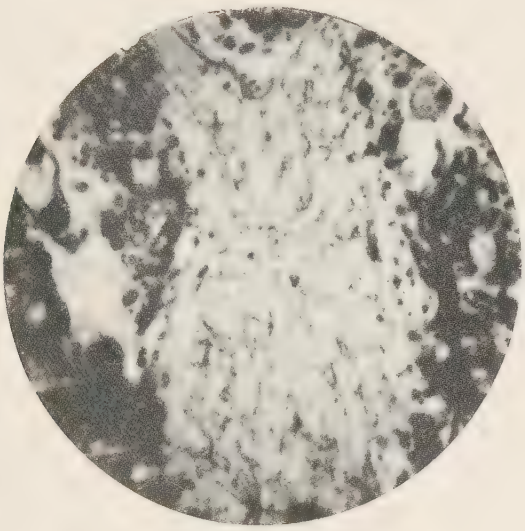


Fig. 11.

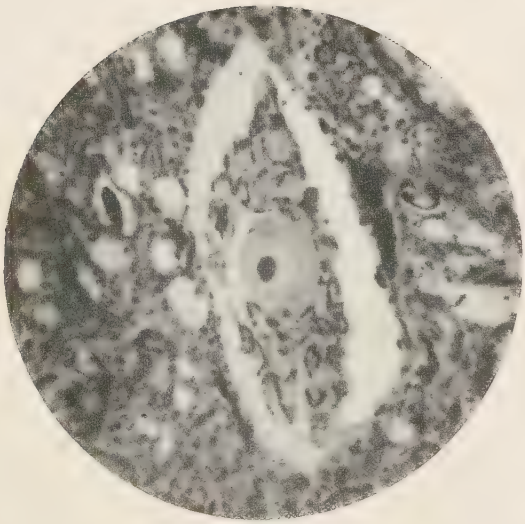


Fig. 12.

MASSON & Cie, Editeurs

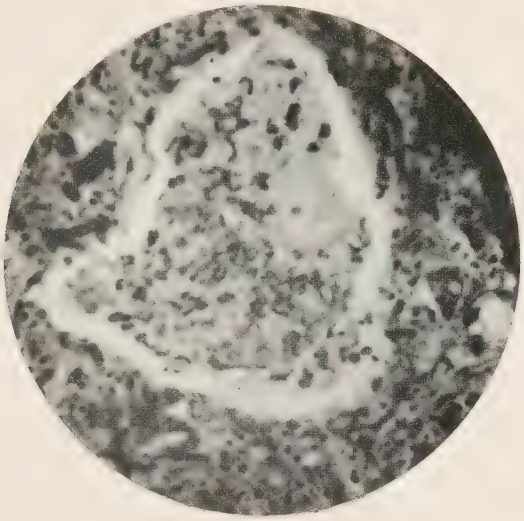


FIG. 13.

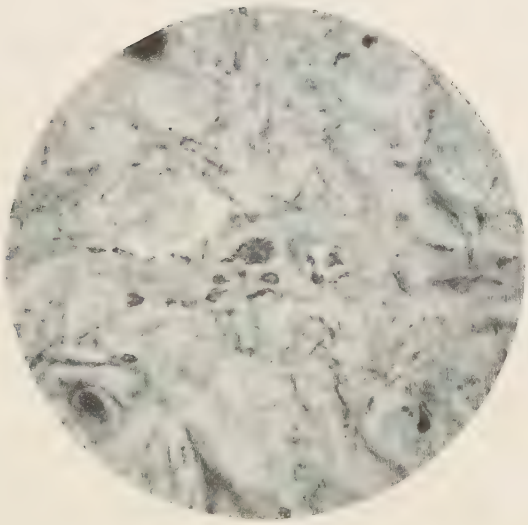


FIG. 14.

MASSON & Cie, EDITEURS

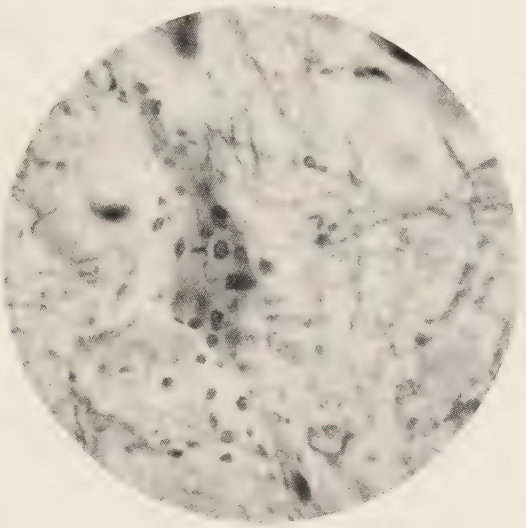


Fig. 15.

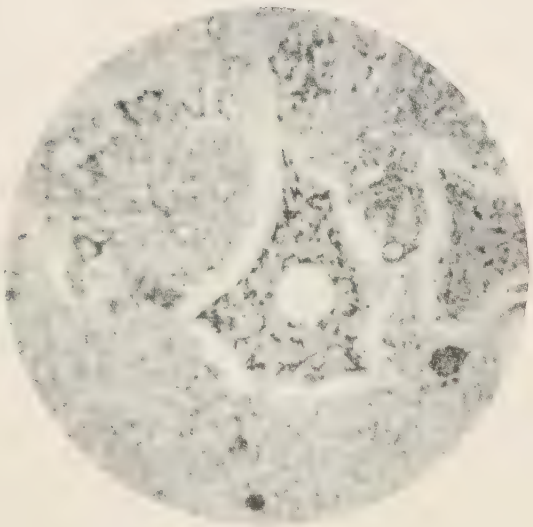


Fig. 16.

MASSON & Cie, Editeurs

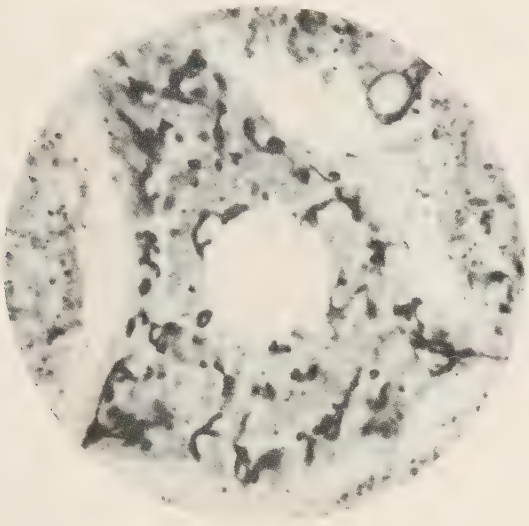


FIG. 17.

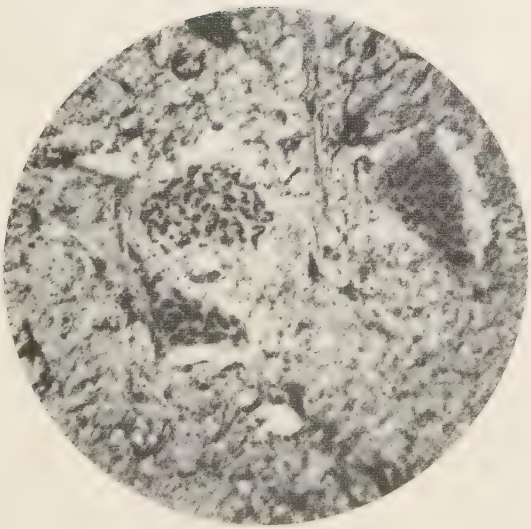


FIG. 18.

MASSON & C^ie^, EDITEURS

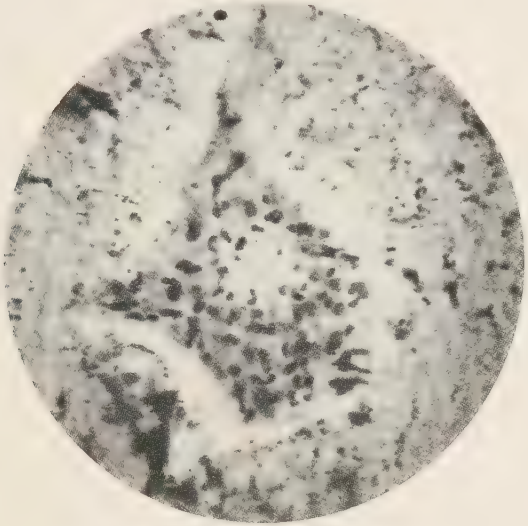


Fig. 19.

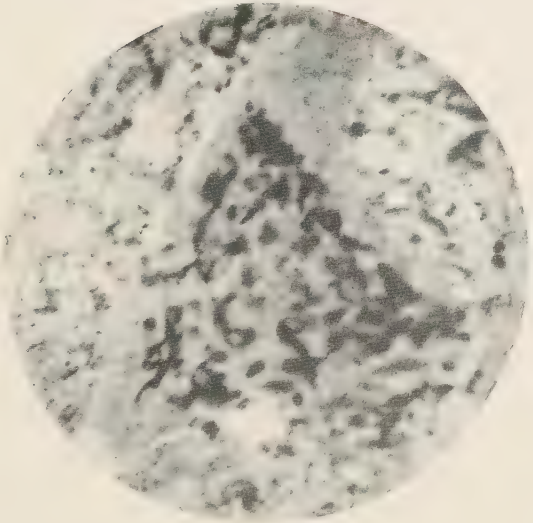


Fig. 20.

MASSON & C^ie^, Editeurs

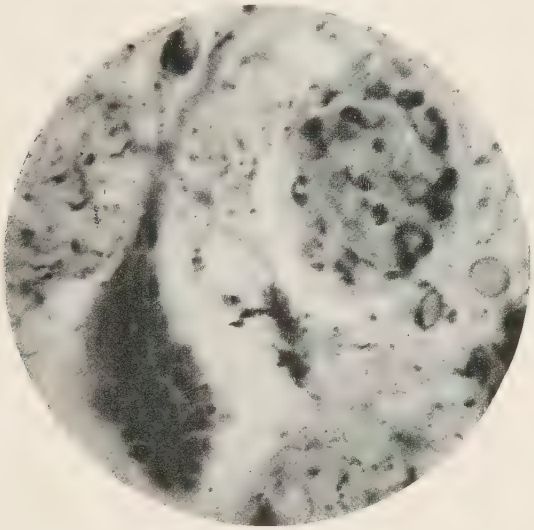


Fig. 21.

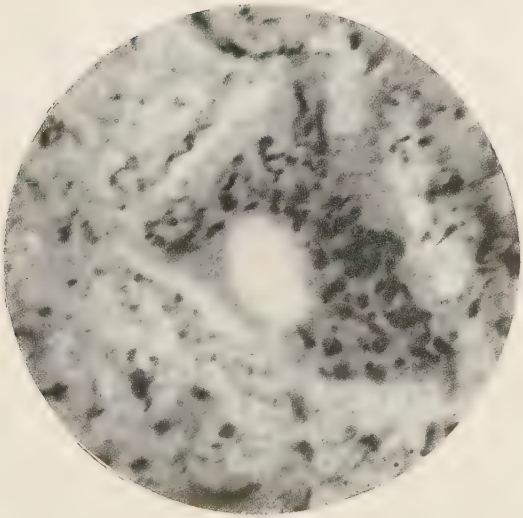


Fig. 22.

MASSON & Cie, Editeurs

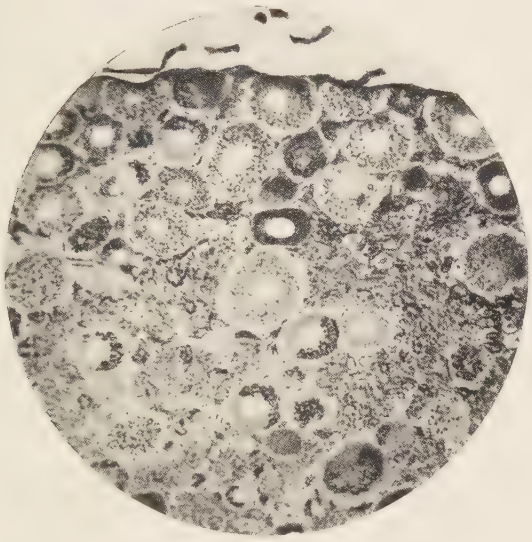


Fig. 23.

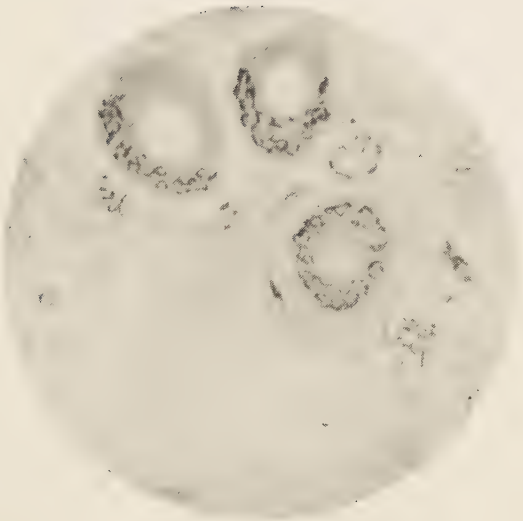


Fig. 24.

MASSON & Cie, Editeurs

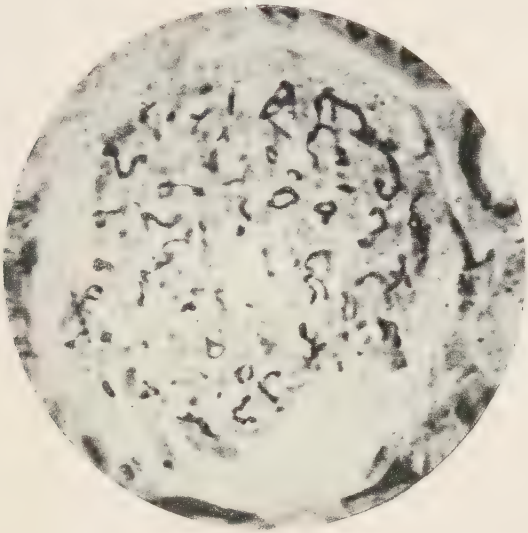


Fig. 25.

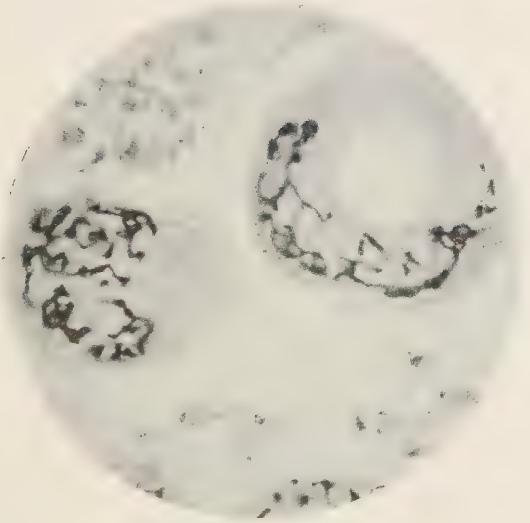


Fig. 26.

MASSON & Cie, Editeurs

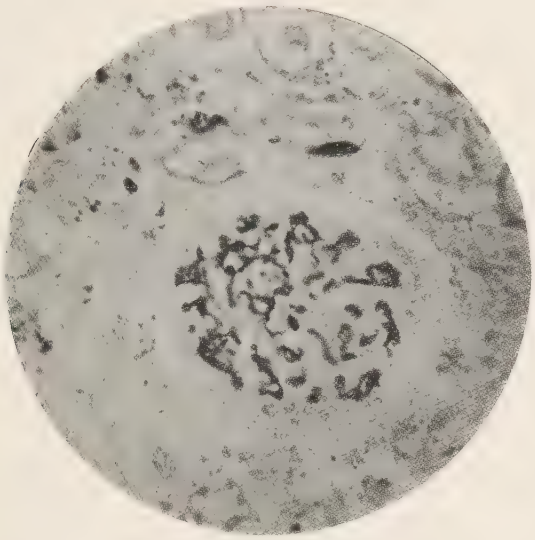


Fig. 27.

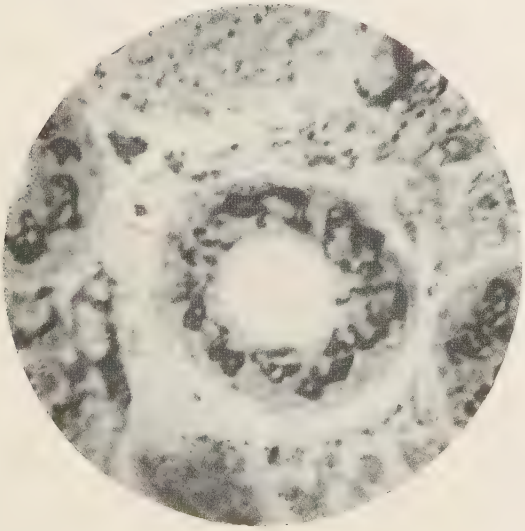


Fig. 28.

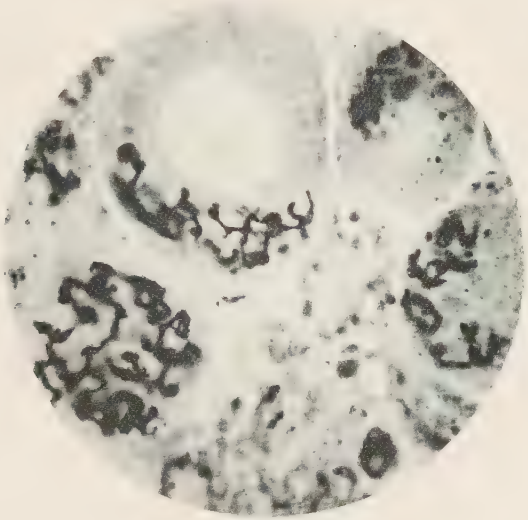


Fig. 29.

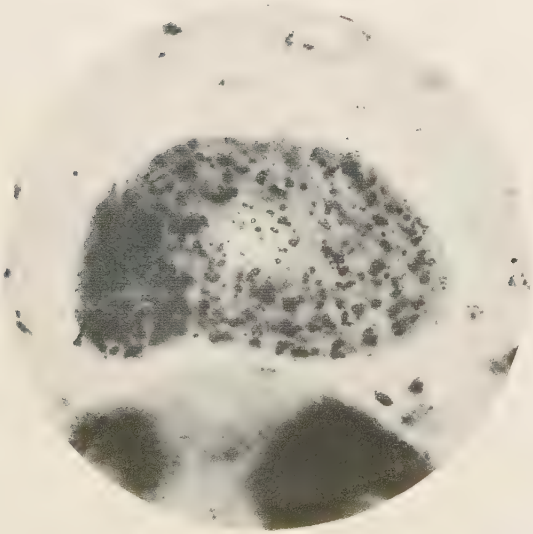


Fig. 30.

MASSON & Cie, Editeurs

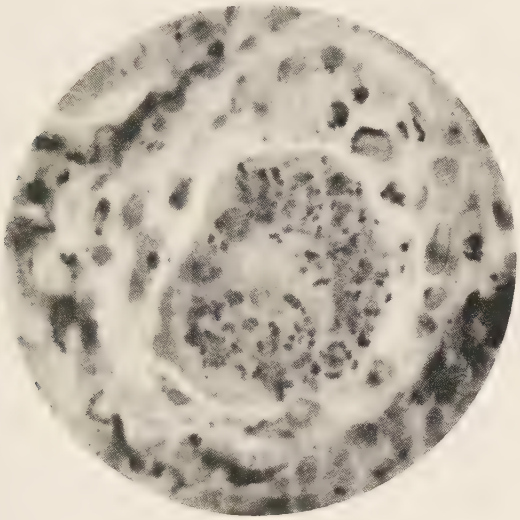


FIG. 31

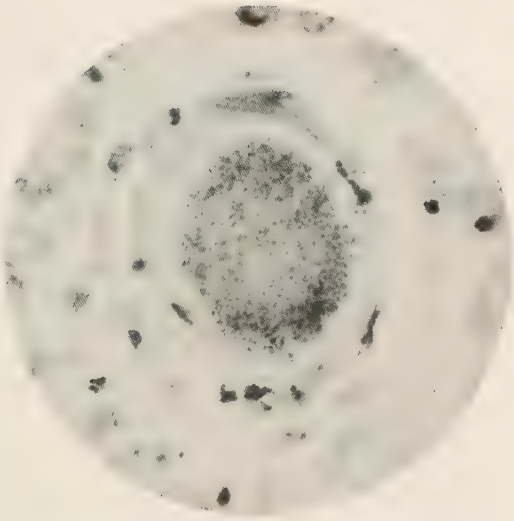


FIG. 32.

MASSON & C^ie^, EDITEURS

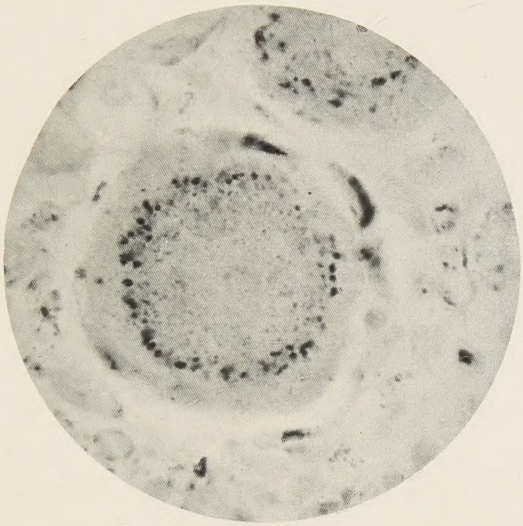


FIG. 33.

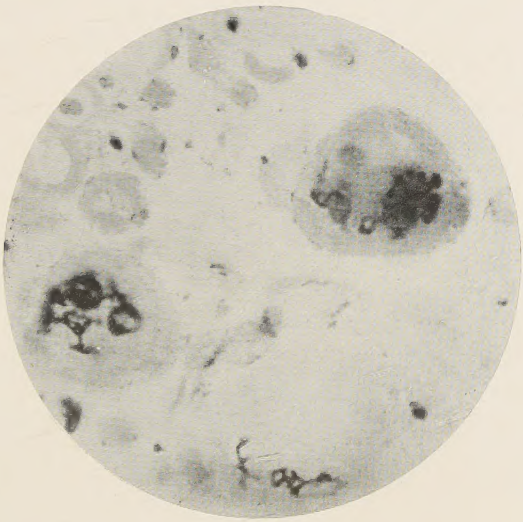


FIG. 34.

MASSON & C^ie^, EDITEURS

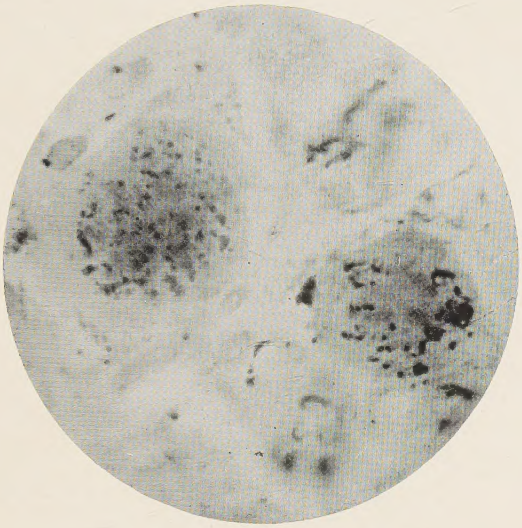


FIG. 35.

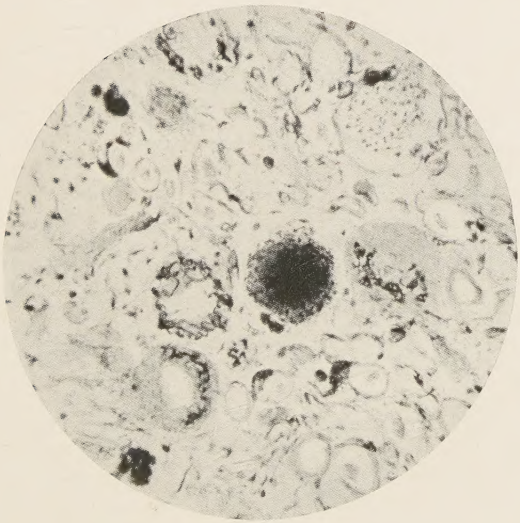


FIG. 36.

MASSON & C^ie^, EDITEURS